

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli*
DAN *Staphylococcus aureus* SERTA UJI TOKSISITAS EKSTRAK AIR
DAUN KELOR (*Moringa oleifera* L.) HASIL SONIKASI**

SKRIPSI

**Oleh:
CHINTYA PERMATASARI
NIM. 16630057**



**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2021**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli*
DAN *Staphylococcus aureus* SERTA UJI TOKSISITAS EKSTRAK AIR
DAUN KELOR (*Moringa oleifera* L.) HASIL SONIKASI**

SKRIPSI

**Oleh:
CHINTYA PERMATASARI
NIM. 16630057**

**Diajukan Kepada :
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2021**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli*
DAN *Staphylococcus aureus* SERTA UJI TOKSISITAS EKSTRAK AIR
DAUN KELOR (*Moringa oleifera* L.) HASIL SONIKASI**

SKRIPSI

Oleh :
CHINTYA PERMATASARI
NIM. 16630057

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal: 18 Juni 2021

Pembimbing I



Eny Yulianti, M.Si
NIP. 19760611 200501 2 006

Pembimbing II



Ahmad Hanapi, M.Sc
NIDT. 19851225 20160801 1 069

Mengesahkan,
Ketua Program Studi







Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli*
DAN *Staphylococcus aureus* SERTA UJI TOKSISITAS EKSTRAK AIR
DAUN KELOR (*Moringa oleifera* L.) HASIL SONIKASI**

SKRIPSI

**Oleh:
CHINTYA PERMATASARI
NIM. 16630057**

**Telah Dipertahakan di Depan Dewan Penguji Skripsi
dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 18 Juni 2021**

| | | |
|---------------------------|--|--|
| Penguji Utama | : Suci Amalia, M.Sc NIP. 19821101 200901 2 007 |  (.....) |
| Ketua Penguji | : Rif'atul Mahmudah, M.Si NIDT. 19830125 20160801 2 068 |  (.....) |
| Sekretaris Penguji | : Eny Yulianti, M.Si NIP. 19760611 200501 2 006 |  (.....) |
| Anggota Penguji | : Ahmad Hanapi, M.Sc NIDT. 19851225 20160801 1 069 |  (.....) |

**Mengesahkan,
Ketua Program Studi**


Elck Kemilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Chintya Permatasari

NIM : 16630057

Program Studi : Kimia

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian : Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap Bakteri *Escherichia coli* Dan *Staphylococcus aureus* Serta Uji Toksisitas Ekstrak Air Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) Hasil Sonikasi

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 14 Juni 2021
Yang membuat pernyataan



Chintya Permatasari
NIM. 16630057

PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirobbil'aalamiin

Senantiasa memanjatkan puja dan puji syukur kepada Allah SWT, serta sholawat serta salam tetap tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW, saya persembahkan karya sederhana ini kepada:

Kepada kedua orang tua saya **Ayah As'ari dan Ibu Khusnah** yang selama ini memberikan segala bentuk dukungan, nasehat, do'a, motivasi serta kasih sayang yang tidak tergantikan. Terima kasih untuk segalanya, karena beliau-beliau lah yang memberikan segalanya yang terbaik untuk saya. Semoga Allah SWT melimpahkan kasih sayang-Nya untuk beliau-beliau.

...

Kepada adik saya **Levi Haryo Atmoko** yang memberi dukungan dan semangat untuk menyelesaikan skripsi ini. Semoga Allah memudahkanmu dalam menggapai cita-cita di masa depan.

...

Bapak A.Ghanaim Fasya, M.Si selaku dosen wali, **Ibu Eny Yulianti, M.Si** dan **Bapak Ahmad Hanapi, M.Sc** selaku pembimbing yang telah sabar memberi arahan dan motivasi yang tiada henti hingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini. Semoga kebaikan bapak/ibu dijadikan pahala yang berlipat oleh Allah SWT.

...

Kepada sahabat sambatku **Kiki, Merinda, Fiki, Rana** yang selalu setia dan sabar mendengar sambatku. Terima kasih sudah menemani, membantu begitu banyak, memberi dukungan, saran, dan menjadi penenang yang selalu ku butuhkan. Semoga kalian dilimpahi keberkahan oleh Allah SWT dan jangan pernah bosan dengan sambatku dikemudian hari.

...

Kepada **Tim Kelor** terima kasih sudah saling mendukung dan membantu dalam penelitian. Untuk **Vivi dan Vita** terima kasih sudah banyak membantu, semoga Allah SWT memudahkan urusan kalian semua.

MOTTO

If you can dream it, you can do it
-Walt Disney-

فَإِنَّ مَعَ الْعُسْرِ يُسْرًا

“Maka sesungguhnya beserta kesulitan ada kemudahan”
[QS. Al-Insyirah : 5]

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis terhadap kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, taufiq, hidayah, dan inayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan hasil penelitian yang berjudul **“Uji Aktivitas Antibakteri terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* serta Uji Toksisitas Ekstrak Air Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Hasil Sonikasi”**. Laporan hasil penelitian ini telah disusun dengan maksimal dan tidak lepas dari bantuan berbagai pihak sehingga dapat memperlancar penulisan laporan hasil penelitian ini. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Kedua orang tua tercinta, saudara-saudara, teman-teman, serta sahabat penulis yang selalu member motivasi kepada penulis.
2. Bapak Prof. Dr. Abdul Haris, M.Ag selaku rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Ibu Dr. Sri Harini, M.Si selaku dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si selaku ketua program studi kimia Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
5. Ibu Eny Yulianti, M.Si selaku dosen pembimbing utama yang telah meluangkan waktu untuk membimbing, memotivasi, mengarahkan, dan memberikan masukan dalam penyusunan proposal skripsi ini.
6. Bapak Ahmad Hanapi, M.Sc selaku dosen pembimbing agama yang telah meluangkan waktu untuk membimbing, memotivasi, mengarahkan, dan memberikan masukan dalam penyusunan proposal skripsi ini.
7. Seluruh dosen jurusan kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberikan ilmu, pengetahuan, pengalaman, serta wawasannya sebagai pedoman dan bekal bagi penulis.
8. Kepada semua pihak yang secara langsung maupun tidak langsung telah ikut memberikan bantuan dan motivasi selama penyusunan proposal skripsi ini.

Terlepas dari semua itu, penulis menyadari sepenuhnya bahwa masih terdapat kekurangan baik dari segi susunan kalimat maupun tata bahasanya. Oleh

karena itu, dengan tangan terbuka penulis menerima segala saran dan kritik dari pembaca agar penulis dapat lebih baik lagi dalam penulisan laporan hasil penelitian maupun karya tulis lainnya. Akhir kata, penulis berharap semoga laporan hasil penelitian ini dapat memberikan manfaat maupun inspirasi terhadap pembaca.

Malang, 18 Juni 2021

Penulis

DAFTAR ISI

| | |
|---|--------------|
| HALAMAN JUDUL | i |
| LEMBAR PENGESAHAN | ii |
| LEMBAR PERSETUJUAN | iii |
| PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN | iv |
| PERSEMBAHAN..... | v |
| MOTTO | vi |
| KATA PENGANTAR..... | vii |
| DAFTAR ISI..... | ix |
| DAFTAR TABEL | xii |
| DAFTAR GAMBAR..... | xiii |
| DAFTAR LAMPIRAN | xiv |
| ABSTRAK | xv |
| ABSTRACT..... | xvi |
| مستخلص..... | xvii |
| BAB I PENDAHULUAN..... | 1 |
| 1.1 Latar Belakang | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah | 6 |
| 1.3 Tujuan..... | 6 |
| 1.4 Batasan Masalah..... | 7 |
| 1.5 Manfaat..... | 7 |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA | 8 |
| 2.1 Tanaman Kelor (<i>M. oleifera</i>) | 8 |
| 2.1.1 Deskripsi Tanaman Kelor (<i>M. oleifera</i>)..... | 8 |
| 2.1.2 Klasifikasi dan Morfologi Tanaman Kelor (<i>M. oleifera</i>)..... | 9 |
| 2.1.3 Kandungan Senyawa Daun Kelor (<i>M. oleifera</i>)..... | 10 |
| 2.1.4 Manfaat Daun Kelor (<i>M. oleifera</i>) | 11 |
| 2.2 Pengeringan Simplisia..... | 12 |
| 2.3 Ekstraksi Daun Kelor (<i>M. oleifera</i>) | 13 |
| 2.3.1 Ekstraksi Sonikasi | 14 |
| 2.3.2 Ekstraksi Maerasi..... | 15 |
| 2.4 Antibakteri..... | 16 |
| 2.4.1 Mekanisme Kerja Senyawa Antibakteri | 16 |
| 2.4.2 Uji Aktivitas Antibakteri..... | 17 |
| 2.5 Bakteri <i>E. coli</i> | 20 |
| 2.5.1 Klasifikasi dan Morfologi <i>E. coli</i> | 20 |
| 2.5.2 Patogenitas <i>E. coli</i> | 22 |
| 2.6 Bakteri <i>S. aureus</i> | 23 |
| 2.6.1 Klasifikasi dan Morfologi <i>S. aureus</i> | 24 |
| 2.6.2 Patogenitas <i>S. aureus</i> | 25 |
| 2.7 Toksisitas..... | 25 |
| 2.7.1 Larva Udang <i>Artemia salina</i> Leach | 25 |
| 2.7.2 Metode <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> (BSLT)..... | 27 |
| 2.7.3 Mekanisme Uji Toksisitas..... | 28 |

| | |
|--|-----------|
| 2.8 Identifikasi Senyawa Aktif Daun Kelor dengan Uji Fitokimia..... | 29 |
| 2.8.1 Flavonoid | 29 |
| 2.8.2 Alkaloid..... | 32 |
| 2.8.3 Saponin | 33 |
| 2.8.4 Tanin | 34 |
| 2.8.5 Triterpenoid..... | 35 |
| 2.8.6 Steroid | 37 |
| BAB III METODOLOGI PENELITIAN | 38 |
| 3.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan Penelitian | 38 |
| 3.2 Alat Penelitian | 38 |
| 3.3 Bahan Penelitian..... | 38 |
| 3.4 Tahapan Penelitian | 39 |
| 3.5 Prosedur Kerja Penelitian..... | 39 |
| 3.5.1 Preparasi Sampel | 39 |
| 3.5.2 Analisis Kadar Air | 40 |
| 3.5.3 Pembuatan Ekstrak Daun Kelor | 40 |
| 3.5.3.1 Ekstraksi Sonikasi..... | 40 |
| 3.5.3.2 Ekstraksi Maserasi | 41 |
| 3.5.4 Identifikasi Golongan Senyawa Aktif dalam Daun Kelor..... | 41 |
| 3.5.4.1 Uji Flavonoid | 41 |
| 3.5.4.2 Uji Alkaloid | 41 |
| 3.5.4.3 Uji Triterpenoid dan Steroid..... | 42 |
| 3.5.4.4 Uji Tanin..... | 42 |
| 3.5.4.5 Uji Saponin | 42 |
| 3.5.5 Analisis Aktivitas Antibakteri | 43 |
| 3.5.5.1 Sterilisasi Alat..... | 43 |
| 3.5.5.2 Pembuatan Larutan Kontrol..... | 43 |
| 3.5.5.3 Pembuatan Media | 43 |
| 3.5.5.4 Peremajaan Bakteri | 44 |
| 3.5.5.5 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji (Inokulum) | 44 |
| 3.5.5.6 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kelor | 44 |
| 3.5.6 Analisis Toksisitas Ekstrak Terbaik dari Uji Antibakteri..... | 45 |
| 3.5.6.1 Penetasan Telur Larva Udang <i>Artemia salina</i> Leach | 45 |
| 3.5.6.2 Uji Toksisitas Ekstrak Daun Kelor | 46 |
| 3.5.7 Analisis Data | 47 |
| 3.5.7.1 Analisis Data Uji Aktivitas Antibakteri..... | 47 |
| 3.5.7.2 Analisis Data Uji Toksisitas Ekstrak Terbaik Uji Antibakteri | 47 |
| BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN | 48 |
| 4.1 Preparasi Sampel | 48 |
| 4.2 Penentuan Kadar Air | 49 |
| 4.3 Ekstraksi Daun Kelor (<i>M. oleifera</i>)..... | 50 |
| 4.4 Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Daun Kelor (<i>M. oleifera</i>)..... | 53 |
| 4.4.1 Uji Flavonoid | 55 |
| 4.4.2 Uji Alkaloid | 57 |
| 4.4.3 Uji Triterpenoid dan Steroid | 59 |
| 4.4.4 Uji Tanin | 62 |

| | |
|---|-----------|
| 4.4.5 Uji Saponin | 62 |
| 4.5 Uji Aktivitas Antibakteri | 64 |
| 4.5.1 Analisis Data | 76 |
| 4.6 Uji Toksisitas Ekstrak Terbaik Uji Antibakteri..... | 79 |
| 4.6.1 Penetasan Telur Larva Udang <i>Artemia salina</i> | 79 |
| 4.6.2 Uji Toksisitas | 79 |
| BAB V PENUTUP..... | 82 |
| 5.1 Kesimpulan..... | 82 |
| 5.2 Saran..... | 82 |
| DAFTAR PUSTAKA | 83 |
| LAMPIRAN..... | 94 |

DAFTAR TABEL

| | | |
|-----------|--|----|
| Tabel 2.1 | Penapisan Kualitatif Fitokimia Ekstrak Air Daun Kelor | 11 |
| Tabel 2.2 | Kategori Zona Hambat..... | 19 |
| Tabel 2.3 | Potensi Ekstrak atau Fraksi Berdasarkan LC ₅₀ | 29 |
| Tabel 4.1 | Kadar Air Daun Kelor..... | 49 |
| Tabel 4.2 | Hasil Rendemen Ekstrak Daun Kelor | 52 |
| Tabel 4.3 | Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Air Daun Kelor (<i>M. oleifera</i>)..... | 54 |
| Tabel 4.4 | Zona Hambat Ekstrak Air Daun Kelor terhadap Bakteri <i>E. coli</i> | 65 |
| Tabel 4.5 | Zona Hambat Ekstrak Air Daun Kelor terhadap Bakteri <i>S. aureus</i> | 68 |
| Tabel 4.6 | Hasil Uji BNT Variasi Konsentrasi terhadap Zona Hambat..... | 77 |
| Tabel 4.7 | Hasil Uji BNT Variasi Jenis Ekstrak Terhadap Zona Hambat | 78 |
| Tabel 4.8 | Nilai LC ₅₀ Uji Toksisitas Ekstrak Air Daun Kelor | 80 |

DAFTAR GAMBAR

| | |
|--|----|
| Gambar 2.1 Daun Kelor | 12 |
| Gambar 2.2 Bakteri <i>E. coli</i> | 21 |
| Gambar 2.3 Bakteri <i>S. aureus</i> | 23 |
| Gambar 2.4 Larva Udang <i>Artemia salina</i> Leach | 27 |
| Gambar 2.5 Struktur Dasar Flavonoid | 30 |
| Gambar 2.6 Struktur Kuersetin | 31 |
| Gambar 2.7 Mekanisme Flavonoid Sebagai Antibakteri | 31 |
| Gambar 2.8 Struktur Alkaloid | 32 |
| Gambar 2.9 Mekanisme Alkaloid Sebagai Antibakteri | 33 |
| Gambar 2.10 (a)Struktur Saponin Tipe Triterponid dan (b) Struktir Saponin Tipe Steroid..... | 34 |
| Gambar 2.11 Struktur Senyawa Tanin | 35 |
| Gambar 2.12 Struktur Senyawa Triterpenoid | 35 |
| Gambar 2.13 Mekanisme Triterpenoid Sebagai Antibakteri | 36 |
| Gambar 2.14 Struktur Senyawa Steroid..... | 37 |
| Gambar 4.1 Reaksi Dugaan Flavonoid Dengan Logam Mg dan Cl | 56 |
| Gambar 4.2 Reaksi Dugaan Uji Dragendorff | 58 |
| Gambar 4.3 Reaksi Dugaan Uji Meyer | 59 |
| Gambar 4.4 Reaksi Dugaan Triterpenoid Dengan Reagen Liebermann-Burchad..... | 61 |
| Gambar 4.5 Reaksi Dugaan Uji Saponin | 63 |
| Gambar 4.6 (a) Zona Hambat Ekstrak Sonikasi Sampel Kering Angin terhadap <i>E. coli</i> (b) Zona Hambat Ekstrak Sonikasi Sampel Kering Angin terhadap <i>E. coli</i> dan (c) Kontrol..... | 66 |
| Gambar 4.7 (a) Zona Hambat Ekstrak Maserasi Sampel Kering Angin terhadap <i>E. coli</i> (b) Zona Hambat Ekstrak Maserasi Sampel Kering Angin terhadap <i>E. coli</i> dan (c) Kontrol..... | 67 |
| Gambar 4.8 (a) Zona Hambat Ekstrak Sonikasi Sampel Kering Angin terhadap <i>S. aureus</i> (b) Zona Hambat Ekstrak Sonikasi Sampel Kering Angin terhadap <i>S. aureus</i> dan (c) Kontrol | 69 |
| Gambar 4.9 (a) Zona Hambat Ekstrak Maserasi Sampel Kering Angin terhadap <i>S. aureus</i> (b) Zona Hambat Ekstrak Maserasi Sampel Kering Angin terhadap <i>S. aureus</i> dan (c) Kontrol | 70 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | |
|---|-----|
| Lampiran 1. Rancangan Penelitian | 94 |
| Lampiran 2. Diagram Alir Penelitian..... | 95 |
| Lampiran 3. Perhitungan..... | 102 |
| Lampiran 4. Data dan Perhitungan Hasil Penelitian | 106 |
| Lampiran 5. Data Hasil Uji Aktivitas Antibakteri | 109 |
| Lampiran 6. Hasil Analisis dengan <i>Two Way Anova</i> dan Uji BNT <i>Anova</i> | 112 |
| Lampiran 7. Data Hasil Uji Toksisitas..... | 115 |
| Lampiran 8. Dokumentasi..... | 116 |

ABSTRAK

Permatasari, Chintya. 2021. **Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* serta Uji Toksisitas Ekstrak Air Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) Hasil Sonikasi**

Pembimbing I: Eny Yulianti, M.Si.; Pembimbing II: Ahmad Hanapi, M.Sc.; Konsultan: Rif'atul Mahmudah, M.Si.

Kata Kunci : Daun kelor, Sonikasi, Aktivitas antibakteri, Toksisitas.

Daun kelor (*M. oleifera*) merupakan salah satu bahan alam yang memiliki senyawa aktif yang dapat berpotensi sebagai antibakteri. Pertumbuhan bakteri patogen yang berlebihan dapat mengakibatkan penyakit berupa infeksi pada tubuh. Bakteri *E. coli* dan *S. aureus* merupakan bakteri patogen apabila pertumbuhan bakteri tersebut dalam tubuh berlebihan. Dampak negatif dari pertumbuhan bakteri *E. coli* yang berlebihan yaitu infeksi saluran pencernaan sedangkan bakteri *S. aureus* dapat menyebabkan infeksi kulit dan saluran pernapasan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya hambat ekstrak daun kelor terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* serta untuk mengetahui tingkat toksik ekstrak daun kelor dari hasil uji antibakteri terbaik.

Ekstrak daun kelor didapat dengan ekstraksi sonikasi menggunakan pelarut air dengan sampel yang berbeda yaitu sampel kering jemur dan kering angin. Metode yang digunakan dalam uji aktivitas antibakteri yaitu metode difusi agar pada masing-masing ekstrak menggunakan variasi konsentrasi ekstrak yang berbeda yaitu 250, 500, 750, 1000, 1250 µg/ml. Selanjutnya dilakukan identifikasi senyawa aktif dengan uji fitokimia serta uji toksisitas dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) dari ekstrak daun kelor hasil uji antibakteri terbaik terhadap larva udang *Artemia salina* Leach dengan variasi konsentrasi 25, 50, 100, 200, 400 ppm.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak sonikasi sampel kering jemur menghasilkan rendemen tertinggi yaitu 40,48% sedangkan sampel kering angin menghasilkan rendemen 30,36%. Selain itu, ekstrak sonikasi sampel kering jemur juga menghasilkan aktivitas antibakteri tertinggi terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* yaitu sebesar 5,75 mm dan 5,58 mm sedangkan sampel kering angin menghasilkan aktivitas antibakteri sebesar 5,40 mm terhadap bakteri *E. coli* dan terhadap bakteri *S. aureus* sebesar 4,85 mm. Hasil uji fitokimia menunjukkan pada semua sampel ekstrak air daun kelor mengandung flavonoid, alkaloid, saponin, dan triterpenoid. Pada hasil uji toksisitas dengan sampel terbaik uji antibakteri yaitu sampel ekstrak sonikasi kering jemur menghasilkan nilai LC₅₀ sebesar 183,115 ppm dimana nilai tersebut berpotensi sebagai antibakteri.

ABSTRACT

Permatasari, Chintya. 2021. **Antibacterial Activity Test Against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* Bacteria and Toxicity Test of *Moringa oleifera* Leaf Water Extract from Sonication Results**

Supervisor I: Eny Yulianti, M.Si.; Supervisor II: Ahmad Hanapi, M.Sc.;
Consultant: Rif'atul Mahmudah, M.Si.

Keywords : *Moringa oleifera* leaves, Sonication, Antibacterial Activity, Toxicity.

M. oleifera leaves are natural ingredients that have active compounds for antibacterial potential. Excessive growth of pathogenic bacteria can cause disease in the form of infection in the body. *E. coli* and *S. aureus* bacteria are pathogenic when the bacteria grows in excess. The negative impact of the overgrowth of *E. coli* bacteria is a digestive tract infection while *S. aureus* bacteria can cause skin and respiratory infections. This study aims to determine the inhibition power of *M. oleifera* leaf extract against *E. coli* and *S. aureus* bacteria and to determine the toxic level of *M. oleifera* leaf extract from the best antibacterial test results.

M. oleifera leaf extract was obtained by sonication extraction using water solvents with different samples, namely sun drying and wind drying samples. The method used in the antibacterial activity test was the agar diffusion method for each extract using different extract concentration of 250, 500, 750, 1000, 1250 µg/ml. Furthermore, the identification of active compounds was carried out using phytochemical tests and toxicity tests using the BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) method from the best extract of the antibacterial test results against shrimp larvae *Artemia salina* Leach with variation concentrations of 25, 50, 100, 200, 400 ppm.

The results showed that the sonication extraction of dried samples in the sun produced the highest yield 40.48%, while the wind dry samples produced 30.36% yields. In addition, the sonication extract of dried samples in the sun also produced the highest antibacterial activity against *E. coli* and *S. aureus* by 5.75 mm and 5.58 mm, while wind dry samples produced antibacterial activity of 5.40 mm against *E. coli* bacteria and against *S. aureus* bacteria by 4.85 mm. The results of the phytochemical test showed that all the water extract samples of *Moringa* leaves contained flavonoids, alkaloids, saponins, and triterpenoids. In the results of the toxicity test with the best extract of the antibacterial test is dried sonication extract in the sun produced an LC₅₀ value of 183.115 ppm where this value has the potential as antibacterial.

مستخلص

بيرماتاساري ، الصين. 2021. اختبار النشاط المضاد للبكتيريا ضد الإشريكية القولونية والمكورات العنقودية الذهبية واختبار السمية لمركب المورينجا أوليفيرا L. مستخلص الأوراق من نتائج الصوتنة مع التباين في تحضير العينة. المستشار الأول: إيني يوليانتني ، ماجستير ؛ المستشار الثاني: أحمد حنابي ماجستير ؛ المستشار: رفعتول ماهامبانج ، ماجستير.

الكلمات المفتاحية: أوراق المورينجا ، صوتنة ، نشاط مضاد للجراثيم ، سمية.

أوراق المورينجا (*Moringa oleifera*) هي واحدة من المكونات الطبيعية التي لديها مركبات نشطة التي يمكن أن يحتمل أن تكون مضادة للبكتيريا. يمكن أن يؤدي النمو المفرط للبكتيريا المسببة للأمراض إلى أمراض في شكل التهابات في الجسم. بكتيريا *E.coli* و بكتيريا *S.aureus* هما بكتيريا مسببة للأمراض عندما يكون نمو هذه البكتيريا في الجسم مفرطاً. التأثير السلبي للنمو المفرط للبكتيريا القولونية هو التهابات الجهاز الهضمي في حين أن بكتيريا *S.aureus* يمكن أن تسبب التهابات الجلد والجهاز التنفسي. تهدف هذه الدراسة إلى معرفة طعم استخراج أوراق المورينجا ضد بكتيريا الإشريكية القولونية وبكتيريا *S.aureus* ومعرفة المستوى السام لاستخراج أوراق المورينجا من أفضل نتائج الاختبار المضاد للبكتيريا.

يتم الحصول على استخراج أوراق المورينجا عن طريق استخراج سونيكيشن باستخدام المذيبات المياه مع عينات مختلفة من عينات الرياح الجافة والجافة. الطريقة المستخدمة في اختبار النشاط المضاد للبكتيريا هي طريقة الانتشار بحيث في كل مستخلص باستخدام اختلافات مختلفة من تركيزات المستخلصات وهي 250 ، 500 ، 750 ، 1000 ، 1250 ميكروغرام / مل. وعلاوة على ذلك، تحديد المركبات النشطة مع اختبار الكيمياء النباتية واختبار السمية مع BSLT (اختبار الجمبري الملحية الفتك) من المورينجا ورقة استخراج نتيجة أفضل اختبار مضاد للبكتيريا ضد اليرقات الجمبري *Artemia salina* ليتش مع وجود اختلافات تركيزات 25، 50، 100، 200، 400 جزء في المليون. وأظهرت النتائج أن عينة التجفيف الجافة الناتجة عن أنتجت أعلى رينديمين بنسبة 40.48٪ في حين أن عينة الرياح الجافة أنتجت رينديمين بنسبة 30.36٪. وبالإضافة إلى ذلك، الجافة استخراج عينة من سونيكيشن الجافة تنتج أيضاً أعلى نشاط مضاد للبكتيريا ضد *E.coli* و بكتيريا *S.aureus* من 5.75 ملم و 5.58 ملم في حين أن عينات الرياح الجافة تنتج نشاط مضاد للبكتيريا من 5.40 مم ضد بكتيريا القولونية وضد البكتيريا من 3.85 ملم. في نتائج اختبار السمية مع أفضل عينة من اختبار مضاد للبكتيريا، عينة من استخراج سونيكيشن الجافة أدى إلى قيمة LC50 من 183.115 جزء في المليون حيث تنتمي القيمة إلى فئة سامة ويحتمل أن تكون مضادة للبكتيريا.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Infeksi merupakan keadaan dimana mikroorganisme seperti bakteri, virus dan jamur masuk ke dalam tubuh, berkembangbiak, dan menyebabkan penyakit (Sugiharti, dkk., 2016). Bakteri patogen dalam tubuh yang beresiko menyebabkan berbagai infeksi seperti infeksi saluran pencernaan, diare, dan infeksi kulit adalah bakteri *E. coli* dan *S. aureus* (Sudarmi, dkk., 2017). Bakteri *E. coli* adalah bakteri normal yang terdapat dalam usus sedangkan bakteri *S. aureus* merupakan bakteri flora normal pada kulit dan selaput lendir manusia. Namun, apabila pertumbuhan bakteri tersebut tidak normal atau berlebihan maka bakteri tersebut akan bersifat patogen dan menimbulkan berbagai penyakit salah satunya infeksi (Dima, dkk., 2016).

Bakteri *E. coli* dalam air mengindikasikan kontaminasi oleh feses yang memungkinkan mengandung mikroorganisme patogen lain. Sedangkan dalam saluran pencernaan menghasilkan enterotoksin yang menyebabkan diare (Fatiqin, dkk., 2019). Bakteri *S. aureus* menjadi patogen apabila terjadi perubahan kuantitas bakteri dan penurunan daya tahan tubuh. Infeksi memiliki cara penularan yang berbeda-beda, seperti melalui makanan, air, dan udara. (Roni, dkk., 2019). Bakteri *E. coli* dan *S. aureus* resisten terhadap beberapa antibiotik. Namun, penggunaan antibiotik dalam jangka panjang dan dosis yang tidak tepat dapat menyebabkan gangguan kinerja organ tubuh seperti jantung, ginjal, dan hati (Munfaati, dkk., 2015). Oleh karena itu, perlu dikembangkan pengobatan

alternatif dengan bahan alam yang lebih efektif, efisien, dan aman dalam upaya menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus*.

Manusia telah dikaruniai akal untuk berpikir dan mencari sesuatu yang belum diketahui manfaat dan bahayanya, baik dalam makhluk hidup ataupun benda mati. Allah SWT menciptakan segala sesuatu agar manusia dapat berpikir, seperti yang dijelaskan dalam firman-Nya Surat Asy-Syu'ara' (7),

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

Artinya : “Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?” (QS. Asy-Syu'ara' : 7).

Ayat diatas menjelaskan bahwa semua yang ada di bumi diciptakan memiliki tujuan. Sebagaimana Allah SWT menciptakan berbagai macam tanaman yang memiliki banyak manfaat bagi manusia. Salah satu manfaat dari tanaman tersebut yaitu memiliki khasiat sebagai obat berbagai penyakit. Berbagai tanaman yang diciptakan di bumi memiliki khasiat yang berbeda-beda walaupun tumbuh ditanah dan disiram dengan air yang sama, tergantung bagaimana manusia dapat memanfaatkannya.

Salah satu bahan alam yang digunakan sebagai obat antibakteri yaitu tanaman kelor (*M. oleifera*). Menurut Rizkayanti, dkk., (2017) daun kelor memiliki manfaat sebagai antibakteri, antimikroba, dan antioksidan untuk mempercepat penyembuhan berbagai penyakit. Dalam penelitian Pawaskar dan Sasangan (2017) kandungan metabolit sekunder dalam daun kelor menunjukkan adanya tanin, alkaloid, fenol dan flavonoid. Kandungan metabolit sekunder yang terdapat dalam

daun kelor memiliki aktivitas penghambatan pertumbuhan terhadap berbagai patogen (Ilanko, dkk., 2019). Antibakteri adalah zat yang menekan pertumbuhan atau reproduksi bahkan membunuh bakteri (Rollando, 2019). Ekstrak daun kelor dapat menghambat pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa*, *S. aureus* dan *B. subtilis* (Pandey, dkk., 2012). Daun kelor mempunyai aktivitas antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus* (Dima, dkk., 2016).

Daun kelor memiliki zat fitokimia diantaranya tanin, steroid, triterpenoid, flavonoid, saponin, alkaloid, dan gula pereduksi. Senyawa-senyawa tersebut memiliki kemampuan sebagai obat, salah satunya antibakteri (Agustie dan Samsumaharto, 2013). Hasil uji fitokimia terhadap ekstrak air, etanol, dan kloroform daun kelor yang dilakukan oleh Vinoth, dkk., (2012) terbukti mengandung senyawa antibakteri diantaranya flavonoid, saponin, tanin, terpenoid, alkaloid, dan glikosida.

Pengeringan daun kelor dalam penelitian ini digunakan dua cara yaitu kering jemur dan kering angin. Kualitas produk yang akan digunakan sangat dipengaruhi proses pengeringan. Pengeringan dengan sinar matahari adalah proses pengeringan yang ekonomis, mudah, dan membutuhkan waktu yang singkat sedangkan pengeringan dengan angin selain proses pengeringan yang ekonomis dan mudah juga menjaga senyawa bioaktif dalam simplisia (Widarta dan Wiadnyani, 2019). Menurut Hasyim dan Hapzah (2019) preparasi daun kelor dengan proses pengeringan dapat mempengaruhi kandungan gizinya, pengeringan dengan menggunakan cahaya matahari dapat menurunkan kandungan mineral daun kelor lebih tinggi dibanding pengeringan pada suhu ruang. Jumlah protein yang mampu dipertahankan dengan pengeringan pada suhu ruang adalah sebesar

71,68%, sedangkan pengeringan dengan matahari mempertahankan protein sebanyak 71,39%. Kandungan zat gizi pada ekstrak daun kelor lebih tinggi dibandingkan daun kelor basah dan pada daun kelor akan mengalami peningkatan kuantitas salah satunya vitamin C jika dikonsumsi setelah dikeringkan dan dijadikan tepung (Rahayu dan Nurindahsari, 2019).

Metode ekstraksi simplisia daun kelor digunakan metode sonikasi. Menurut Handayani, dkk., (2015) metode sonikasi merupakan metode yang menggunakan gelombang ultrasonik dengan frekuensi lebih besar dari 16-20 kHz. Metode ini memiliki kelebihan diantaranya lebih singkat dan meningkatkan jumlah rendemen kasar. Metode sonikasi merupakan proses ekstraksi yang efisien dan efektif dan memiliki kemampuan lebih cepat dalam proses ekstraksi dibandingkan dengan metode maserasi dan soxhlet (Wahyuni dan Widjanarko, 2014). Pelarut yang digunakan pada ekstraksi daun kelor digunakan pelarut air. Digunakan pelarut air dalam ekstraksi daun kelor karena menurut Anwar, dkk., (2014) pemilihan pelarut air sangat menguntungkan karena ekonomis, tidak berbahaya dan mudah diperoleh, sehingga mudah diaplikasikan oleh masyarakat dan dapat diketahui pemanfaatannya sebagai tanaman herbal.

Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram. Metode difusi cakram merupakan metode penentuan sensitivitas bakteri dengan suatu zat tertentu yang memiliki kemungkinan menghambat aktivitas antibakteri dengan menggunakan cakram kertas (Amalia, dkk., 2014). Menurut Prayoga (2013) kelebihan metode ini yaitu tidak memerlukan peralatan khusus, mudah dilakukan, dan relatif murah. Selanjutnya dilakukan pengukuran diameter zona hambat yang berada di sekitar cakram kertas. Diameter zona hambat yang mengelilingi cakram

kertas adalah ukuran kekuatan hambatan agen mikroba terhadap bakteri uji (Kandou dan Pandiangan, 2018). Berdasarkan penelitian yang dilakukan Adline dan Devi (2014) uji aktivitas antibakteri ekstrak air daun kelor terhadap bakteri *E. coli* dengan konsentrasi 20, 50, 75, dan 100 µg/ml menghasilkan zona hambat berturut-turut 0,4 mm, 0,5 mm, 0,5 mm, dan 0,6 mm. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Vinoth, dkk., (2012) aktivitas antibakteri ekstrak air daun kelor menggunakan metode maserasi menghasilkan zona hambat pada bakteri *E. coli* sebesar 0 mm dan bakteri *S. aureus* sebesar 8 mm. Diameter zona hambat terhadap bakteri sangat dipengaruhi oleh konsentrasi ekstrak sehingga semakin besar zona hambat yang dihasilkan ekstrak maka kemampuan antibakterinya semakin besar (Kurniawati, 2015).

Uji toksisitas dilakukan dengan menggunakan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) menggunakan larva *Artemia salina* untuk diketahui tingkat toksisitas ekstrak air daun kelor dari hasil uji antibakteri terbaik. Uji toksisitas berhubungan dengan nilai LC_{50} yang menunjukkan konsentrasi zat toksik yang mengakibatkan kematian organisme sampai 50% (Aqiila, dkk., 2017). Menurut Setyowati dan Cahyanto (2016) metode BSLT digunakan untuk mengetahui aktivitas toksik dari ekstrak atau senyawa bahan alam menggunakan larva udang *Artemia salina* sebagai hewan uji. Keuntungan dari metode BSLT yaitu mudah dilakukan, tidak membutuhkan spesialisasi tertentu, relatif murah, dan mempunyai hasil dengan tingkat kepercayaan tinggi sekitar 95% untuk mengamati aktivitas toksik dari suatu senyawa di dalam ekstrak bahan alam. Hasil yang diharapkan dalam uji toksisitas ekstrak air daun kelor ini yaitu $LC_{50} > 30 - 200$ ppm karena menurut Petrina, dkk., (2017) pada range $LC_{50} > 30 - 200$ ppm ekstrak berpotensi

sebagai antibakteri. Dalam penelitian yang dilakukan Anwar, dkk., (2014) uji toksisitas ekstrak daun kelor menggunakan pelarut aquades pada suhu kamar menghasilkan LC_{50} sebesar 265,977 ppm.

Berdasarkan latar belakang diatas, penelitian tentang daun kelor sebagai zat antibakteri perlu dilakukan karena sangat bermanfaat bagi kesehatan. Sehingga peneliti ingin melakukan penelitian dengan metode ekstraksi sonikasi untuk membandingkan dengan metode ekstraksi maserasi dan diamati kerja terbaik dalam menghambat bakteri. Oleh karena itu, peneliti ingin melakukan penelitian uji aktivitas antibakteri dari ekstrak air daun kelor menggunakan metode sonikasi terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* serta dilanjutkan uji toksisitas ekstrak daun kelor dari hasil uji antibakteri terbaik untuk diketahui tingkat toksik ekstrak daun kelor.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas rumusan masalah penelitian ini yaitu:

1. Bagaimana aktivitas antibakteri ekstrak air daun kelor terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* dengan variasi preparasi sampel?
2. Bagaimana uji toksisitas ekstrak air daun kelor metode BSLT dari hasil uji antibakteri terbaik?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang diatas tujuan penelitian ini yaitu:

1. Menentukan aktivitas antibakteri ekstrak air daun kelor terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* dengan variasi preparasi sampel.

2. Menentukan tingkat toksik ekstrak air daun kelor dari hasil uji antibakteri terbaik.

1.4 Batasan Penelitian

Batasan masalah dari penelitian ini yaitu:

1. Daun kelor (*M. oleifera*) yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari area Kediri.
2. Variasi preparasi sampel digunakan pengeringan dengan angin dan dengan sinar matahari yang masing-masing di ekstrak dengan metode sonikasi dan maserasi.
3. Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi daun kelor (*M. oleifera*) yaitu air.
4. Uji antibakteri dalam penelitian ini dilakukan dengan metode difusi cakram.
5. Uji toksisitas dalam penelitian ini dilakukan dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) menggunakan larva *Artemia salina* Leach.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini yaitu:

1. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dalam menentukan aktivitas antibakteri ekstrak air daun kelor hasil sonikasi terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* dengan variasi preparasi sampel.
2. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dalam menentukan tingkat toksik ekstrak air daun kelor dari hasil uji antibakteri terbaik.

BAB II

KAJIAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Kelor (*M. oleifera*)

2.1.1 Deskripsi Tanaman Kelor (*M. oleifera*)

M. oleifera adalah salah satu pohon paling berguna di dunia, karena hampir setiap bagian dari pohon dapat digunakan untuk makanan, obat-obatan dan keperluan industri (Chukwuebuka, 2015). Tidak hanya tanaman kelor, semua tanaman di dunia ini diciptakan karena memiliki alasan, seperti yang dijelaskan dalam firman-Nya Surat Ar-Ra'd : 4,

وَفِي الْأَرْضِ قِطْعٌ مُتَجَاوِرَاتٌ وَجَنَّاتٌ مِنْ أَعْنَابٍ وَزَرْعٌ
وَنَخِيلٌ صِنْوَانٌ وَغَيْرُ صِنْوَانٍ يُسْقَى بِمَاءٍ وَاحِدٍ وَنُفِضَ
بَعْضُهَا عَلَى بَعْضٍ فِي الْأُكُلِ ۚ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ لِقَوْمٍ
يَعْقِلُونَ

Artinya : “Dan di bumi ini terdapat bagian-bagian yang berdampingan, dan kebun-kebun anggur, tanaman-tanaman dan pohon kurma yang bercabang dan yang tidak bercabang, disirami dengan air yang sama, Kami melebihkan sebagian tanaman-tanaman itu atas sebahagian yang lain tentang rasanya. Sesungguhnya pada yang demikian itu terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi kaum yang berfikir” (QS. Ar-Ra'd : 4).

Ayat tersebut menjelaskan bahwa semua yang ada di bumi diciptakan memiliki tujuan. Sebagaimana Allah SWT menciptakan berbagai macam tanaman yang memiliki rasa yang berbeda-beda, baik manis, asam, maupun pahit. Namun dari rasa tidak mempengaruhi khasiat yang dihasilkan dari tanaman tersebut. Seperti

tanaman yang terasa manis dapat merugikan bagi kesehatan manusia, tetapi ada juga tanaman yang terasa asam dan pahit namun sangat bermanfaat bagi kesehatan manusia. Salah satu manfaat dari tanaman tersebut yaitu digunakan sebagai obat dari berbagai penyakit. Berbagai tanaman yang diciptakan di bumi memiliki kelebihan yang berbeda, tergantung bagaimana manusia bisa memikirkan dan memanfaatkannya dalam berbagai aspek.

M. oleifera termasuk dalam genus *Moringa* yang merupakan satu-satunya genus dalam keluarga *Moringaceae*. Tanaman ini tumbuh paling baik di mana suhu rata-rata harian maksimum dalam kisaran 25 sampai 35°C, meskipun dapat bertahan hidup pada suhu musim panas hingga 48°C untuk periode waktu terbatas dan dapat mentolerir embun beku di musim dingin (Chukwuebuka, 2015). Tumbuh sampai ketinggian ± 1000 mdpl di dataran rendah maupun dataran tinggi yang biasa digunakan sebagai tapal batas (Krisnadi, 2015). *M. oleifera* (umumnya dikenal sebagai pohon lobak kuda, pohon stik drum, pohon kehidupan) adalah pohon tahan kekeringan yang tumbuh cepat yang memiliki penanaman luas di daerah tropis dan subtropis secara global. Hal ini sangat umum di daerah barat laut India, dari mana ia diyakini berasal, meskipun telah dinaturalisasi di seluruh dunia. Sebagian besar pohon dapat dimakan dan dikonsumsi sebagai sayuran bergizi (Ilanko dkk., 2019).

2.1.2 Klasifikasi dan Morfologi Tanaman Kelor (*M. oleifera*)

M. oleifera dapat diklasifikasikan sebagai berikut (Maizuwo, dkk., 2017) :

Kingdom : Plantae
Division : Magnoliophyta
Class : Magnoliopsida

Ordo : Brassicales
Family : Moringaceae
Genus : Moringa
Species : *Moringa oleifera*

M. oleifera adalah tanaman dengan tinggi maksimum 7 - 12 m dengan diameter sekitar 20 - 40 cm. Tangkai daun panjang dengan 8-10 pasang pinnae, masing-masing memiliki dua pasang selebaran elips dan satu selebaran hadir di puncak yang panjangnya 1 - 2 cm (Amjad dkk., 2015). Tanaman kelor memiliki batang yang tegak dengan warna putih kotor, permukaan kasar, dan memiliki kecenderungan tumbuh lurus dan memanjang dengan arah cabang miring atau tegak. Buah nya memiliki panjang sekitar 20 - 60 cm dengan biji berbentuk bulat berwarna coklat kehitaman (Hidayat dan Napitupulu, 2015)

2.1.3 Kandungan Senyawa Daun Kelor (*M. oleifera*)

Setiap bagian dari tanaman kelor merupakan gudang nutrisi penting dan antinutrien. Salah satu bagian tanaman kelor yang dimanfaatkan yaitu daun kelor. Daun kelor kaya akan mineral seperti kalsium, kalium, magnesium, besi dan tembaga. Vitamin seperti beta-karoten, vitamin A, vitamin B seperti asam folat, piridoksin, asam nikotinat, serta vitamin C, D dan E. Kelor memiliki banyak mineral yang penting untuk pertumbuhan dan perkembangan manusia (Gopalakrishnan dkk., 2016). Menurut Rahayu dan Nurindahsari (2019) kandungan zat gizi dalam daun kelor memiliki peran penting untuk tumbuh kembang anak diantaranya protein, kalsium, dan vitamin A. Kandungan zat gizi pada ekstrak daun kelor lebih tinggi dibandingkan daun kelor basah. Kandungan gizi pada daun kelor akan mengalami peningkatan kuantitas salah satunya vitamin

C jika dikonsumsi setelah dikeringkan dan dijadikan tepung (Rahayu dan Nurindahsari, 2019).

Tabel 2.1 Penapisan Kualitatif Fitokimia Ekstrak Air Daun Kelor

| No | Fitokimia | Ekstrak Air |
|----|------------------------|-------------|
| 1 | Terpenoid | - |
| 2 | Steroid dan Fitosterol | - |
| 3 | Tanin | + |
| 4 | Alkaloid | + |
| 5 | Glikosida | + |
| 6 | Saponin | + |
| 7 | Fenol | + |
| 8 | Flavonoid | + |
| 9 | Gula reduksi | + |

Sumber : Pawaskar dan Sasangan (2017)

Selain itu, daun kelor kaya akan senyawa bioaktif seperti minyak esensial, saponin, dan tanin, yang hadir di berbagai bagian tanaman (Kholif dkk., 2018). Menurut Abdallah (2016) daun kelor memiliki banyak metabolit sekunder fitokimia yang memiliki sifat farmakologis yang baik seperti alkaloid, flavonoid, dan saponin. Dalam penelitian Pawaskar dan Sasangan (2017) daun kelor menunjukkan adanya tanin, alkaloid, glikosida, fenol dan flavonoid. Kehadiran gula pereduksi dicatat dalam ekstrak metanol dan air dan keberadaan saponin hanya dicatat dalam ekstrak air tanaman.

2.1.4 Manfaat Daun Kelor (*M. oleifera*)

M. oleifera Lam. adalah sumber protein dengan profil asam lemak dan asam amino yang sangat baik. Selain itu, *M. oleifera* kaya akan senyawa bioaktif seperti minyak esensial, saponin, dan tanin, yang hadir di berbagai bagian tanaman. Senyawa ini sering memiliki beberapa sifat antimikroba (Kholif, dkk., 2018).

Bagian tanaman *M. oleifera* seperti daun, bunga, kulit kayu, akar dan biji mengandung berbagai molekul aktif biologis. Molekul yang aktif secara biologis ini dapat mengobati berbagai penyakit seperti kandung kemih histeria, kudis luka, masalah prostat, dan penyakit terkait kulit lainnya.



Gambar 2.1 Daun Kelor (Chukwuebuka, 2015)

Fitokimia yang ada pada tanaman *M. oleifera* menunjukkan berbagai aktivitas seperti antimikroba, antiinflamasi, antidislipidemia (Rajendran, dkk., 2019). Daun, buah, biji, bunga, kulit kayu dan getah juga dimasukkan ke dalam beberapa sistem pengobatan tradisional dan beberapa studi antimikroba telah melaporkan aktivitas penghambatan pertumbuhan untuk berbagai bagian daun kelor terhadap berbagai patogen (Ilanko, dkk., 2019). Berbagai bagian tanaman kelor digunakan sebagai antibakteri, antijamur, antitumor, antipiretik, antiepilepsi, antiinflamasi, diuretik, antihipertensi, antioksidan, antidiabetik, menurunkan kolesterol serta stimulan jantung dan peredaran darah. Daun kelor memiliki manfaat sebagai antibakteri, antimikroba, antioksidan untuk mempercepat penyembuhan berbagai penyakit seperti radang, flu dan pilek, cacingan, tiroid, bronchitis, dan kanker (Rizkayanti, dkk., 2017).

2.2 Pengeringan Simplisia

Pengeringan merupakan proses pemisahan air atau pengeluaran air dalam jumlah yang relatif kecil dari bahan menggunakan energi panas. Pembuatan simplisia yang melewati tahap pengeringan bertujuan untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak dan basi sehingga dapat disimpan dalam jangka waktu yang lama. Mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik dapat mencegah kerusakan atau penurunan mutu simplisia karena air yang tersisa dalam simplisia pada kadar tertentu dapat menjadi media pertumbuhan jasad renik dan kapang. Enzim tertentu dalam sel masih dapat bekerja menguraikan senyawa aktif setelah sel mati dan selama bahan simplisia masih mengandung air dengan kadar tertentu (Utomo, dkk., 2009).

Pengeringan simplisia tanaman dapat dilakukan dengan dua cara yaitu pengeringan buatan dan pengeringan alamiah. Pengeringan buatan dilakukan menggunakan lemari pengering atau oven sedangkan pengeringan alamiah dikelompokkan menjadi pengeringan dengan sinar matahari langsung dan sinar matahari tidak langsung, dengan menutup menggunakan kain hitam diatas bahan yang akan dikeringkan (Utomo, dkk., 2009). Menurut Manoi (2015) terdapat beberapa cara pengeringan yang dilakukan untuk menghasilkan simplisia tanaman, seperti pengeringan dengan matahari, oven, atau diangin-anginkan. Kandungan bahan aktif yang terdapat dalam tanaman sangat dipengaruhi proses pengeringan. Setiap jenis tanaman memiliki respon yang berbeda, beberapa tanaman peka terhadap suhu yang terlalu tinggi dan penyinaran matahari secara langsung. Pengeringan yang tepat akan menghasilkan mutu simplisia yang tahan lama serta tidak terjadi perubahan bahan aktif yang dikandungnya. Pada penelitian

ini digunakan pengeringan dengan matahari (jemur) dan pengeringan dengan angin.

2.3 Ekstraksi Daun Kelor (*M. oleifera*)

Ekstraksi adalah proses penarikan atau pemisahan komponen aktif yang ada dalam tanaman menggunakan pelarut yang sesuai dengan kelarutan komponen aktifnya. Metode ekstraksi dipilih berdasarkan sifat bahan dan senyawa yang akan diambil (Satuhu dan Yulianti, 2012). Faktor-faktor yang mempengaruhi laju ekstraksi yaitu tipe persiapan sampel, jumlah sampel, waktu ekstraksi, jenis pelarut, dan suhu. Selama proses ekstraksi, bahan aktif akan terlarut oleh zat penyari yang sesuai sifat kepolarannya (Amelinda, dkk., 2018). Dalam penelitian ini digunakan ekstraksi sonikasi serta ekstraksi maserasi sebagai pembanding untuk mengekstrak daun kelor dengan tujuan mengambil komponen kimia yang ada dalam daun kelor dan uji aktivitas antibakteri.

2.3.1 Ekstraksi Sonikasi

Sonikasi adalah alat yang menggunakan energi suara untuk proses pengadukan partikel pada suatu sampel. Sonikasi menggunakan energi suara untuk menggerakkan partikel dalam suatu sampel, seperti ekstraksi beberapa senyawa dari tanaman, mikroalga dan rumput laut. Selain itu, sonikasi digunakan untuk mempercepat proses pelarutan materi dengan prinsip pemecahan reaksi intermolekuler, sehingga terbentuk suatu partikel yang berukuran nano. Sonikasi merupakan pemberian perlakuan ultrasonik suatu bahan pada kondisi tertentu, sehingga menyebabkan bahan tersebut mengalami reaksi kimia. Prosesnya dengan menggunakan gelombang ultrasonik pada rentang frekuensi 20 KHz-10 MHz atau disebut dengan istilah ultrasonikasi. Metode sonikasi mampu meningkatkan hasil

komponen yang diekstraksi, meningkatkan laju ekstraksi, mencapai pengurangan waktu ekstraksi. Sonikasi melibatkan getaran mekanis yang merupakan gelombang suara dengan frekuensi tinggi. (Salehan, dkk., 2016).

Ekstraksi sonikasi memiliki kelebihan dibandingkan dengan ekstraksi konvensional atau maserasi karena membutuhkan waktu yang singkat, laju perpindahan massa lebih cepat dan meningkatkan penetrasi dari cairan menuju dinding sel (Januarti, dkk., 2017). Menurut hasil penelitian Sondari, dkk., (2018), rendemen dengan metode sonikasi lebih tinggi daripada ekstraksi sokletasi, hal ini disebabkan efek gelombang ultrasonik melepaskan energi kalor sehingga terjadi pemanasan yang mengakibatkan suhu meningkat dan gerakan mekanik antarmuka zat padat dan zat cair, sehingga mempercepat laju perpindahan massa-nya. Kondisi proses seperti waktu sonikasi dan jenis pelarut yang tepat serta besarnya intensitas dan frekuensi ultrasonik, akan menghasilkan ekstrak dengan rendemen tinggi dan senyawa yang lebih selektif.

2.3.2 Ekstraksi Maserasi

Maserasi merupakan proses ekstraksi simplisia yang dilakukan dengan menggunakan pelarut. Maserasi bertujuan untuk mendapatkan zat - zat yang terkandung di dalam bahan (Dewi, dkk., 2016). Prinsip dari metode maserasi yaitu pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif sehingga zat aktif pada sampel dapat terekstrak dengan cara merendam bubuk simplisia dengan menggunakan pelarut tertentu pada temperatur ruang (Tantrayana dan Zubaidah, 2015).

Maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan. Metode maserasi banyak digunakan untuk skala kecil maupun skala industri.

Metode ini dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil. Maserasi dilakukan dengan memasukkan bubuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar (Amelinda, dkk., 2018). Proses ekstraksi dengan teknik maserasi dilakukan dengan pengocokan atau pengadukan pada suhu ruang. Maserasi mudah dan tidak perlu pemanasan sehingga kecil kemungkinan bahan alam menjadi rusak atau terurai. Pemilihan pelarut berdasarkan kelarutan dan polaritasnya memudahkan pemisahan bahan alam dalam sampel. Pengerjaan metode maserasi yang lama dan dalam keadaan diam selama maserasi memungkinkan banyak senyawa yang akan terekstrak (Susanty dan Bachmid, 2016).

2.4 Antibakteri

Bakteri merupakan sel prokariotik yang khas, tipe sel uniseluler dan tidak terdapat membran inti. Bentuk dasar bakteri digolongkan menjadi beberapa yaitu, bola, spiral, dan batang, umumnya memiliki diameter sekitar 0,5 – 1,0 μm dan panjang 1,5 – 2,5 μm . Berdasarkan struktur dinding selnya, bakteri dibedakan menjadi dua jenis yaitu bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Untuk mencegah tumbuh dan berkembangnya bakteri maka dibutuhkan senyawa atau substansi antibakteri untuk menghambat suatu bakteri patogen dapat tumbuh dan berkembang. Antibakteri adalah substansi yang dihasilkan suatu organisme, yang memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroorganisme lain (Bota, dkk., 2015).

2.4.1 Mekanisme Kerja Senyawa Antibakteri

Mekanisme kerja antibakteri dibedakan menjadi dua yaitu, bakterisida yang memiliki sifat membunuh bakteri dan bakteriostatika yang memiliki sifat

menghambat bakteri. Mekanisme kerja antibakteri adalah sebagai berikut (Rollando, 2019) :

1. Merusak sel, struktur dari sel dirusak dengan cara menghambat proses pembentukan atau setelah proses pembentukan dinding sel.
2. Mengubah permeabilitas sel, apabila membran sitoplasma mengalami kerusakan maka akan menghambat pertumbuhan suatu sel karena fungsi dari membran sitoplasma adalah untuk mempertahankan bagian-bagian tertentu sel dan membentuk integritas komponen selular serta mengatur aktivitas difusi bahan penting.
3. Menghambat kerja enzim, apabila kerja enzim dihambat maka menyebabkan aktivitas sel tidak berjalan normal seperti aktivitas sintesis akan terganggu.
4. Menghambat sintesis protein dan asam nukleat, apabila kerja DNA dan RNA terhambat dapat mengakibatkan kerusakan pada sel karena DNA dan RNA memiliki peran penting dalam pembentukan sel bakteri.
5. Mengubah molekul protein dan asam nukleat, sel hidup tergantung pada molekul protein dan asam nukleat yang terpelihara dalam keadaan alamiahnya. Antibakteri mengubah dengan mendenaturasi protein dan asam nukleat sehingga sel mengalami kerusakan secara permanen.

Struktur sel bakteri adalah target utama dalam mekanisme kerja antibakteri. Mekanisme kerja antibakteri singkatnya akan menyerang membran sitoplasma, sehingga kehilangan kestabilan pada proton, elektron dan koagulasi pada komponen penyusun sel. Ketidakstabilan dinding sel dan membran sitoplasma mengakibatkan pengendalian susunan sel, fungsi permeabilitas selektif, dan fungsi pengangkutan aktif bakteri menjadi terganggu. Gangguan sitoplasma bakteri

mengakibatkan lolosnya makromolekul dan ion suatu sel sehingga sel bakteri menjadi kehilangan bentuk dan terjadi lisis (Sasongko, dkk., 2014).

2.4.2 Uji Aktivitas Antibakteri

Aktivitas antibakteri ditentukan cara kerja bakteri baik bakterisida atau bakteriostatik, dan juga ditentukan oleh konsentrasi minimum untuk inhibisi (KMI) serta potensi pada KMI. Pada percobaan *in vitro* dengan lempeng agar dapat dilihat atau luas diameter hambatan pertumbuhan bakteri di sekeliling antibiotik. Apabila antibiotik pada kadar yang rendah menghasilkan diameter hambatan yang luas di sekeliling antibiotik, maka antibiotik tersebut berpotensi tinggi dalam menghambat bakteri uji yang digunakan (Anastasia, 2010).

Uji antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi. Metode ini merupakan metode yang digunakan untuk menguji daya antibakteri berdasarkan berdifusinya zat antibakteri pada media padat dengan dilakukan pengamatan pada daerah pertumbuhan bakteri (Rollando, 2019). Metode Cakram (Disc) / Kirby Bauer merupakan penentuan sensitivitas bakteri dengan suatu zat tertentu yang memiliki kemungkinan menghambat aktivitas antibakteri dengan menggunakan cakram kertas (Amalia, dkk., 2014). Metode difusi agar yaitu metode difusi dengan cakram kertas pada beberapa konsentrasi ekstrak yang digunakan (Kandou dan Pandiangan, 2018). Pada cara ini kertas cakram digunakan untuk menampung zat antimikroba yang diletakkan pada lempeng agar yang telah diinokulasi bakteri uji kemudian diinkubasi pada suhu dan waktu tertentu sesuai kondisi optimum bakteri uji. Hasil pengamatan berupa ada atau tidaknya zona hambat bakteri uji disekeliling kertas cakram. Kelebihan metode ini yaitu tidak memerlukan peralatan khusus, mudah dilakukan, dan relatif murah (Prayoga, 2013).

Kontrol positif yang digunakan yaitu antibiotik Doxycycline. Menurut Krisnaningsih, dkk., (2005) Mekanisme Doxycycline resisten terhadap bakteri *E. coli* dengan berkurangnya akumulasi antimikrobal dalam sel karena bakteri menurunkan permeabilitas sel dan menghambat sintesis protein dengan cara berikatan pada bagian 16s subunit ribosomal 30s sehingga mencegah aminoasil-tRNA terikat pada situs aktif. Doxycycline adalah semi sintetik bakteriostatik dan antibiotik yang memiliki spektrum luas terhadap bakteri aerob maupun anaerob Gram negatif dan Gram positif, dan beberapa protozoa. Aktivitas antimikroba in-vitro dari Doxycycline lebih efektif daripada tetrasiklin lain untuk pengobatan penyakit pernapasan, saluran kemih dan saluran pencernaan (Soliman, dkk., 2015). Sedangkan kontrol negatif digunakan DMSO (Dimetil Sulfoksida) karena tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Menurut Amalia, dkk., (2014) kontrol negatif DMSO dengan berbagai konsentrasi terbukti tidak memiliki aktivitas antibakteri, sehingga dapat dipastikan aktivitas antibakteri yang dihasilkan murni dari ekstrak tanpa pengaruh dari pelarutnya.

Zona hambat adalah tempat pertumbuhan bakteri yang terhambat menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri di daerah tersebut. Zona hambat terbentuk karena ekstrak bahan alam yang mengandung senyawa metabolit sekunder yang memiliki sifat antibakteri (Septiana dan Sopyan, 2016). Daya hambat ekstrak ditunjukkan dengan ada atau tidaknya zona bening di sekitar cakram kertas. Zona bening tersebut merupakan daerah difusi ekstrak yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri. Kekuatan zat antibakteri dari ekstrak yang digunakan dilihat dari besar diameter zona hambat yang terbentuk. Penggolongan

kekuatan antibakteri dilihat berdasarkan diameter yang diperoleh pada zona hambat di daerah sekitar kertas cakram (Oroh, dkk., 2015).

Tabel 2.2 Kategori Zona Hambat

| Diameter Zona Hambat (mm) | Kategori |
|----------------------------------|-----------------|
| < 5 | Lemah |
| 5 – 10 | Sedang |
| 10 – 20 | Kuat |
| >20 | Sangat Kuat |

Sumber : Oroh, dkk., (2015)

2.5 Bakteri *E. coli*

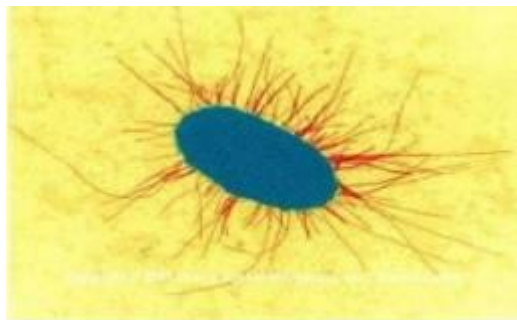
Bakteri *E. coli* merupakan salah satu jenis bakteri yang sering dibicarakan. *E. coli* merupakan jenis spesies utama bakteri gram negatif yang banyak ditemukan di dalam usus halus manusia sebagai flora normal. Namun, apabila kesehatan menurun bakteri ini akan bersifat patogen terutama akibat toksin yang dihasilkan (Bota, dkk., 2015). *E. coli* di alam terbuka hidup di dalam tanah. Apabila terjadi pencemaran, umumnya pencemar organik yang ditandai dengan nilai BOD tinggi, sehingga tanah menjadi media pertumbuhan yang baik untuk bakteri *E. coli* dan mengakibatkan meningkatnya konsentrasi bakteri *E. coli* dalam tanah (Sutiknowati, 2016).

Saat hujan turun atau salju mencair, semakin banyak bakteri *E. coli* yang terbawa oleh air tanah masuk ke sungai menyebabkan konsentrasi *E. coli* akan terdeteksi tinggi di air tanah dan sungai sehingga mengindikasikan terjadinya pencemaran tanah. Bakteri ini dapat dibunuh dengan sinar Ultraviolet (UV), antibiotik, atau suhu tinggi >1000°C. Pada suhu tinggi dapat merusak protein dalam sel sehingga bakteri tersebut tidak dapat hidup kembali. (Sutiknowati, 2016).

2.5.1 Klasifikasi dan Morfologi *E. coli*

Bakteri *E. coli* pertama kali ditemukan oleh Theodor Escherich pada tahun 1885 dan diberi nama *E. coli* sesuai dengan nama penemunya. Bakteri *E. coli* dapat diklasifikasikan (Sutiknowati, 2016) :

| | |
|---------|---------------------------|
| Kingdom | : Eubacteria |
| Filum | : Proteobacteria |
| Kelas | : Gammaproteobacteria |
| Ordo | : Enterobacteriales |
| Famili | : Enterobacteriaceae |
| Genus | : <i>Escherichia</i> |
| Species | : <i>Escherichia coli</i> |



Gambar 2.2 Bakteri *E. coli* (Bota, dkk., 2015)

Bakteri *E. coli* merupakan bakteri berbentuk batang yang memiliki diameter sekitar 0.5 μm dan panjang sekitar 2 μm . Memiliki volume sel bakteri berkisar 0,6 sampai 0,7 m^3 . Bakteri ini dapat hidup pada rentang suhu 20 - 40°C dan tergolong bakteri gram negatif (Sutiknowati, 2016). Bakteri *E. coli* merupakan kuman tidak berkapsul dan dapat bergerak aktif. *E. coli* secara normal ditemukan dalam alat pencernaan manusia. Suhu optimum untuk pertumbuhan bakteri *E. coli* yaitu 37°C. (Hermina, dkk., 2018).

E. coli membutuhkan nutrisi tidak jauh berbeda dengan nutrisi yang dibutuhkan manusia, yaitu protein, gula, dan lemak. Bakteri ini tidak dapat mengonsumsi karbohidrat rantai panjang dan juga tidak dapat melakukan fotosintesis. Bakteri *E. coli* merupakan bakteri heterotrof yang tergantung pada molekul-molekul organik sederhana seperti protein, gula, dan asam organik. Namun, bakteri *E. coli* memiliki kelebihan dapat mencerna garam anorganik (amonium sulfat) dan asam organik (asetat) sebagai sumber nutrisi karbon dan nitrogen. Sehingga *E. coli* dapat bertahan hidup di tanah karena adanya molekul-molekul tersebut yang mungkin dihasilkan oleh mikroorganisme lain dalam tanah (Sutiknowati, 2016).

2.5.2 Patogenitas *E. coli*

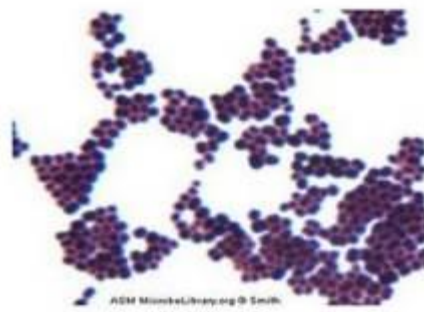
Jenis bakteri ini pada umumnya tidak membahayakan namun beberapa jenis diantaranya bersifat patogen dan menyebabkan diare. Pencegahan infeksi dilakukan dengan memasak makanan menggunakan cara yang benar dan baik, menjaga kebersihan dan sanitasi, serta mencegah air dari kontaminasi tinja (Hermina, dkk., 2018). Jika bakteri *E. coli* menjalar ke sistem atau organ tubuh yang lain akan menyebabkan infeksi. Contohnya, ketika bakteri *E. coli* masuk ke dalam saluran kencing akan mengakibatkan infeksi pada saluran kencing atau kemih. Bakteri *E. coli* dengan jenis yang berbahaya adalah tipe O157:H7, karena bakteri *E. coli* jenis ini dapat bertahan hidup pada suhu yang sangat rendah dan asam (Sutiknowati, 2016).

Bakteri *E. coli* adalah bakteri normal yang dapat ditemukan dalam usus, selain di usus besar bakteri ini terdapat di alam (Dima, dkk., 2016). *E. coli* adalah bakteri penyebab diare pada bayi, terutama di negara berkembang. Mekanisme

infeksi bakteri adalah dengan cara melekatkan dirinya pada sel mukosa usus kecil dan membentuk filamentous actin pedestal sehingga menyebabkan diare cair yang dapat sembuh dengan sendirinya atau juga dapat berlanjut menjadi kronis (Suhartini, 2017). Selain itu, bakteri *E. coli* dapat mengakibatkan penyakit seperti meningitis serta infeksi saluran kemih pada bayi yang baru lahir (Bota, dkk., 2015). Bakteri *E. coli* dapat menyebabkan berbagai penyakit tergantung tempat infeksi, contohnya infeksi saluran kemih (ISK) dan diare.

2.6 Bakteri *S. aureus*

Bakteri *S. aureus* merupakan jenis bakteri yang tidak berspora, tidak bergerak, termasuk bakteri gram positif dan tersusun dalam sebuah kelompok. Pembentukan kelompok ini disebabkan oleh pembelahan sel-sel anaknya yang cenderung tetap berada di dekat sel induknya. Bakteri *S. aureus* merupakan bakteri penyebab penyakit maupun sebagai infeksi yang berkembang di lingkungan rumah sakit (nosokomial). Koloni *S. aureus* tidak bergejala dan hidup secara komensal pada hidung manusia. Bakteri ini dapat menyebabkan penyakit karena kemampuannya melakukan pembelahan, dan menyebar luas ke dalam jaringan serta mampu memproduksi bahan ekstra seluler seperti eksotoksin, katalase, lekosidin, koagulase, toksin eksfoliatif, enterotoksin, dan Toksin Sindroma Syok Toksik (Toxic Shock Syndrome Toxin) (Juliantina, dkk., 2009).



Gambar 2.3 Bakteri *S. aureus* (Bota, dkk., 2015)

S. aureus merupakan bakteri yang bersifat anaerob fakultatif (Amalia, dkk., 2018). Bakteri ini terlihat seperti buah anggur yang mempunyai gugus-gugus. *S. aureus* merupakan flora normal pada saluran pencernaan, saluran pernafasan, dan kulit pada manusia (Suhartini, 2017). Umumnya *S. aureus* dapat tumbuh pada medium-medium yang biasa dipakai di laboratorium bakteriologi, misalnya media agar darah dan Nutrient Agar plate. Selain asam amino atau protein, bakteri *S. aureus* juga memerlukan vitamin diantaranya biotin, asam nikotinat dan, threonin (Woelansari, dkk., 2016).

2.6.1 Klasifikasi dan Morfologi *S. aureus*

Bakteri *S. aureus* dapat diklasifikasikan sebagai berikut (Amalia, dkk., 2018):

| | |
|---------|---------------------|
| Kingdom | : Bacteria |
| Filum | : Firmicutes |
| Kelas | : Bacilli |
| Ordo | : Bacillales |
| Famili | : Staphylococcaceae |
| Genus | : Staphylococcus |

Spesies : *Staphylococcus aureus*

Bakteri *S. aureus* tidak bergerak dan tidak dapat membentuk spora. Akibat pengaruh antibiotik seperti penisilin, *S. aureus* dapat dilisiskan. Bakteri *S. aureus* merupakan bakteri berbentuk bola dengan garis tengah sekitar 1 μm dan tersusun seperti kelompok-kelompok tak beraturan (Woelansari, dkk., 2016). Bakteri *S. aureus* berbentuk meluas, bulat atau lonjong, dan memiliki koloni berwarna kuning keemasan nampak seperti hemolisis ketika tumbuh diatas agar darah (Amalia, dkk., 2018). Suhu optimal untuk membiakkan bakteri ini sekitar 28°C - 38°C. Apabila bakteri *S. aureus* diisolasi dari seorang penderita, suhu optimal adalah 37°C, sedangkan pH optimal pertumbuhan bakteri *S. aureus* adalah 7,4 (Woelansari, dkk., 2016).

2.6.2 Patogenitas *S. aureus*

Bakteri *S. aureus* merupakan bakteri flora normal pada kulit dan selaput lendir manusia. Bakteri ini dapat menjadi penyebab infeksi pada manusia maupun pada hewan. Bakteri *S. aureus* dapat mengakibatkan infeksi kulit atau luka pada organ tubuh apabila bakteri ini dalam keadaan tidak normal dan mengalahkan mekanisme pertahanan tubuh. Saat bakteri ini masuk ke dalam peredaran darah akan menyebar ke organ lain dan meyebabkan infeksi (Bota, dkk., 2015). *S. aureus* merupakan bakteri penyebab terjadinya infeksi yang bersifat piogenik. Bakteri ini masuk ke dalam kulit melalui muara kelenjar keringat, folikel-folikel rambut, dan luka kecil (Suhartini, 2017).

Patogenitas bakteri *S. aureus* berasal dari gabungan berbagai macam metabolit yang dihasilkan bakteri tersebut. Semua jaringan atau organ tubuh dapat

terinfeksi bakteri ini, ditandai dengan pembentukan abses, peradangan setempat, dan nekrosis. Bakteri ini merupakan patogen utama pada manusia karena dapat mengakibatkan infeksi kulit dan keracunan makanan (Rollando, 2019). Beberapa tipe infeksi yang disebabkan oleh bakteri *S. aureus* yaitu infeksi kulit ringan seperti jerawat dan bisul, keracunan, sampai dengan infeksi berat seperti pneumonia, meningitis, mastitis, dan osteomyelitis (Bota, dkk., 2015).

2.7 Toksisitas

2.7.1 Larva Udang *Artemia salina* Leach

Artemia salina Leach merupakan organisme yang sesuai untuk mengetahui bioaktivitas senyawa melalui uji toksisitas. Udang laut adalah spesies perairan sejenis dengan udang primitif. Udang laut ini ditemukan di Lymington, England pada tahun 1755. *Artemia* dapat ditemukan di pedalaman danau air asin di seluruh dunia. *Artemia salina* dapat diklasifikasikan sebagai berikut (Surya, 2018):

| | |
|----------|-------------------------------|
| Kerajaan | : Animalia |
| Divisi | : Arthropoda |
| Kelas | : Branchiopoda |
| Bangsa | : Anostraca |
| Suku | : Artemiidae |
| Marga | : Artemia L. |
| Jenis | : <i>Artemia salina</i> Leach |

Artemia yang banyak dikembangkan yaitu dari spesies *Artemia salina* Leach. Bentuk telur *Artemia salina* bulat penuh dalam keadaan basah dan bulat berlekuk dalam keadaan kering. Memiliki warna coklat yang dilindungi oleh cangkang yang kuat dan tebal. Cangkang berfungsi untuk melindungi embrio

terhadap pengaruh sinar ultraviolet, benturan keras, kekeringan, dan mempermudah pengapungan. Pembiakan *Artemia salina* dilakukan dengan dua cara yaitu berkembangbiak tanpa perkawinan dan proses perkawinan antara *Artemia salina* betina dan jantan. Telur dari *Artemia salina* apabila terpapar sinar matahari atau berada pada suhu sekitar 26 - 28°C akan menetas setelah 24 - 48 jam tergantung pada kondisi lingkungan, selain itu telurnya juga dapat mengadsorpsi air. *Artemia salina* yang baru menetas disebut dengan naupli (larva) memiliki ukuran sekitar 0,25 mm (0,01 inci) (Surya, 2018).

Artemia salina diperdagangkan dalam bentuk telur istirahat biasa disebut dengan kista yang memiliki bentuk bulatan kecil berdiameter sekitar 300 mikron dengan warna kelabu kecoklatan. *Artemia salina* mengalami masa pubertas selama 8 - 14 hari dan dapat hidup selama 4 - 5 minggu tergantung pada konsentrasi garam, apabila konsentrasi garam terlalu tinggi maka waktu hidup *Artemia salina* akan berkurang. Media pertumbuhan yang baik untuk *Artemia salina* yaitu air laut (Surya, 2018).



Gambar 2.4 Larva Udang *Artemia salina* Leach (Surya, 2018)

Makanan yang dapat diberikan dalam pemeliharaan *Artemia salina* yaitu tepung kedelai, katul, tepung beras, tepung terigu, padi, dan ragi karena *Artemia*

salina hanya dapat menelan makanan dengan ukuran kurang dari 50 mikron. Apabila makanan lebih besar dari 50 mikron maka makanan tersebut tidak dapat tertelan karena *Artemia salina* memakan makanan dengan menelannya bulat–bulat (Surya, 2018). *Artemia salina* pada fase naupli atau tahap larva sering dimanfaatkan sebagai hewan uji toksisitas terhadap ekstrak berbagai tanaman, hal ini dikarenakan *Artemia salina* pada tahap naupli sangat mirip dengan sel kanker manusia. DNA-dependent RNA polymerase yang dimiliki *Artemia salina* mirip dengan DNA-dependent RNA polymerase pada mamalia (Aqiila, dkk., 2017).

2.7.2 Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) merupakan salah satu metode yang menggunakan larva udang *Artemia salina* sebagai hewan uji. Metode tersebut merupakan metode yang banyak digunakan untuk uji toksisitas (Surya, 2018). Metode BSLT juga digunakan untuk mengetahui aktivitas toksik dari ekstrak atau senyawa bahan alam. Keuntungan dari metode BSLT yaitu mudah dilakukan, tidak membutuhkan spesialisasi tertentu, relatif murah, dan mempunyai hasil dengan tingkat kepercayaan tinggi sekitar 95% untuk mengamati aktivitas toksik dari suatu senyawa di dalam ekstrak bahan alam (Setyowati dan Cahyanto, 2016).

Aktivitas toksik dapat diketahui dari jumlah kematian larva *Artemia salina* akibat pengaruh senyawa bahan alam atau ekstrak pada konsentrasi yang diberikan. Parameter yang diamati yaitu mortalitas larva *Artemia salina* dan nilai LC_{50} atau Lethal Concentration 50. LC_{50} merupakan nilai yang menunjukkan konsentrasi zat toksik yang mengakibatkan kematian organisme sampai 50%. Nilai $LC_{50} > 1000$ mg/L adalah tidak toksik, nilai $LC_{50} \leq 1000$ mg/L adalah toksik dan nilai $LC_{50} \leq 30$ mg/L adalah sangat toksik (Aqiila, dkk., 2017). Menurut

Meyer dalam Petrina, dkk., (2017) dapat diketahui potensi ekstrak atau fraksi berdasarkan nilai LC_{50} yang dihasilkan.

Tabel 2.3 Potensi Ekstrak atau Fraksi Berdasarkan Nilai LC_{50}

| Nilai LC_{50} (ppm) | Potensi |
|-----------------------|----------------------------|
| 0 – 30 | antikanker dan antioksidan |
| >30 – 200 | Antibakteri |
| >200 – 1000 | Pestisida |

Sumber : Petrina, dkk., (2017)

2.7.3 Mekanisme Uji Toksisitas

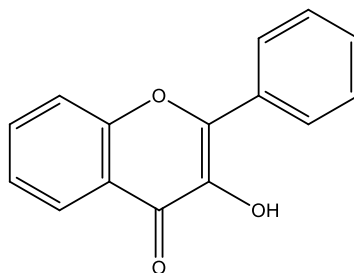
Uji aktivitas toksik adalah salah satu prasyarat suatu bahan alam atau tanaman dapat dikembangkan menjadi obat (Setyowati dan Cahyanto, 2016). Mekanisme kematian larva diperkirakan berhubungan dengan fungsi senyawa metabolit sekunder dalam bahan alam yang dapat menghambat daya makan larva. Senyawa-senyawa tersebut akan bertindak sebagai *stomach poisoning* atau racun perut apabila masuk ke dalam tubuh larva menyebabkan alat pencernaannya terganggu. Racun perut akan menyerang organ utama bagian ventrikulus pada pencernaan serangga. Senyawa metabolit sekunder pada bahan alam dapat menghambat saluran pencernaan serangga, bersifat toksik, dapat penyerap makan dan menurunkan aktivitas enzim pencernaan pada serangga. Selain itu, senyawa metabolit sekunder juga menghambat reseptor perasa di daerah mulut larva. Hal ini mengakibatkan larva tidak mendapatkan stimulus rasa sehingga tidak mampu mengenali makanannya dan menyebabkan larva dapat mati kelaparan (Fadli, dkk., 2019).

2.8 Identifikasi Senyawa Aktif Daun Kelor dengan Uji Fitokimia

2.8.1 Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman hijau, kecuali alga. Flavonoid termasuk senyawa fenolik alam yang potensial dan mempunyai bioaktivitas sebagai obat. Senyawa flavonoid terdapat dalam semua bagian tumbuhan serta sering terkonsentrasi dalam suatu jaringan tertentu, seperti daun, bunga dan buah. Manfaat flavonoid antara lain untuk melindungi struktur sel, meningkatkan efektivitas vitamin C, anti inflamasi, mencegah keropos tulang dan sebagai antibiotik (Bontjura, dkk., 2015).

Flavonoid adalah kelas senyawa yang disajikan secara luas di alam. Flavonoid terdapat dalam semua tumbuhan hijau sehingga dapat ditemukan pada setiap ekstrak tumbuhan. Senyawa flavonoid merupakan senyawa polifenol yang mempunyai 15 atom karbon yang tersusun dalam konfigurasi C6-C3-C6, artinya kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C6 (cincin benzena tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga karbon (Arifin dan Ibrahim, 2018). Menurut Nugrahani, dkk., (2016) uji flavonoid dilakukan menggunakan metode Wilstater dengan menambahkan HCl pekat dan logam Mg untuk masing-masing sampel dan hasil positif uji flavonoid akan menghasilkan warna orange/ jingga.

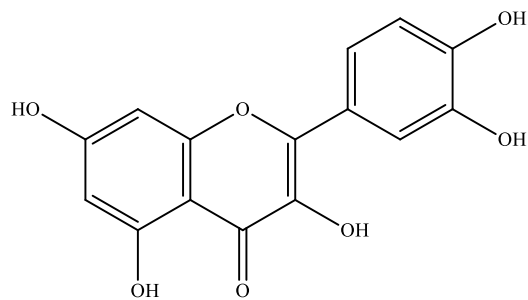


Gambar 2.5 Struktur Dasar Flavonoid (Suriyawati, 2018)

Flavonoid memiliki potensi sebagai antibakteri yang kuat dengan menunjukkan perlindungan terhadap patogen tanaman dan sebagai hasilnya,

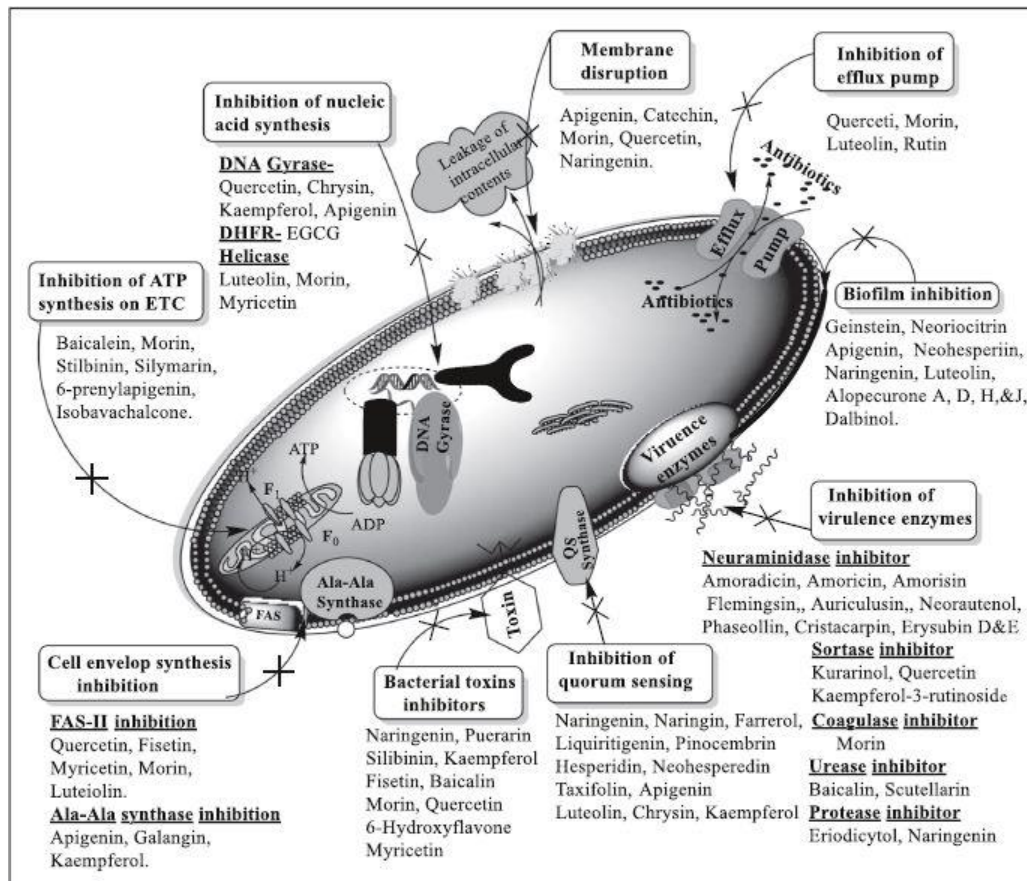
flavonoid juga dapat menunjukkan efektivitas dalam memerangi patogen pada manusia. Kuersetin merupakan kelas flavonoid kelompok flavonol yang memiliki aktivitas antibakteri dan mampu meningkatkan permeabilitas membran sel bakteri sehingga dapat mengubah struktur dan fungsi membran, menyebabkan denaturasi protein membran sehingga membran sel akan rusak dan lisis. Selain itu, kuersetin memiliki molekul yang dapat menarik air atau hidrofilik dan molekul yang dapat melarutkan lemak atau lipofilik sehingga dapat menurunkan tegangan permukaan sel yang akhirnya menyebabkan kehancuran bakteri (Herslambang, dkk., 2015).

Struktur kuersetin ditunjukkan pada Gambar 2.6



Gambar 2.6 Struktur kuersetin

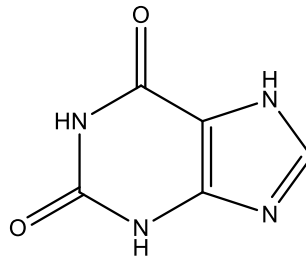
Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri dibagi menjadi tiga yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membrane sel, dan menghambat metabolisme energi (Bontjura, dkk., 2015). Dugaan mekanisme flavonoid sebagai antibakteri ditunjukkan Gambar 2.6



Gambar 2.7 Mekanisme flavonoid sebagai antibakteri (Biharee, dkk., 2020)

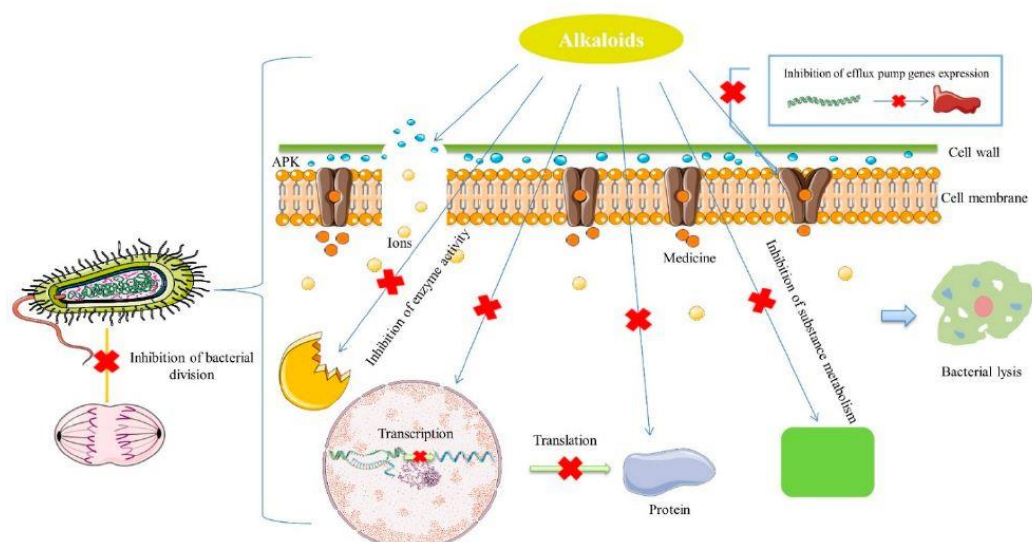
2.8.2 Alkaloid

Senyawa alkaloid merupakan senyawa organik terbanyak yang ditemukan di alam, senyawa ini biasanya ditemukan pada daun-daunan (Putra, dkk., 2016). Alkaloid mengandung paling sedikit satu atom N yang bersifat basa dan pada umumnya merupakan bagian dari cincin heterosiklik. Uji alkaloid dilakukan menggunakan reagen Dragendorff dengan hasil positif terbentuk endapan jingga dan menggunakan reagen Meyer dengan hasil positif terbentuk endapan putih kekuningan (Nugrahani, dkk., 2016).



Gambar 2.8 Struktur Alkaloid (Suriyawati, 2018)

Fungsi senyawa alkaloid bagi tumbuhan adalah sebagai zat racun untuk melawan serangga atau hewan pemakan tanaman dan sebagai faktor pengaruh pertumbuhan. Kegunaan lain dari senyawa ini di bidang farmakologi sebagai stimulan sistem saraf, obat batuk, obat tetes mata, *sedative*, obat malaria, kanker, dan antibakteri (Putra, dkk., 2016). Selain itu, alkaloid memiliki potensi sebagai antibakteri dimana alkaloid juga dapat menghambat aktivitas protease fungsional bakteri (Yan, dkk., 2021). Dugaan mekanisme alkaloid sebagai antibakteri ditunjukkan Gambar 2.9.

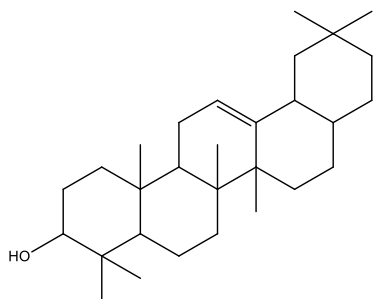


Gambar 2.9 Mekanisme alkaloid sebagai antibakteri (Yan, dkk., 2021)

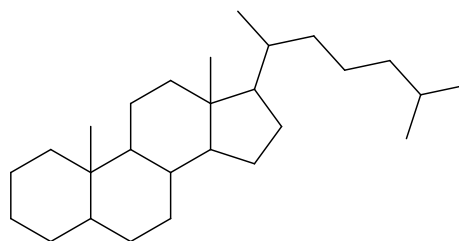
2.8.3 Saponin

Saponin merupakan senyawa sekunder yang banyak ditemukan pada tanaman di bagian akar, kulit, daun, biji, dan buah yang berfungsi sebagai sistem pertahanan. Keberadaan saponin dapat dicirikan dengan pembentukan busa yang stabil pada larutan cair (Hidayah, 2016). Senyawa saponin merupakan senyawa glikosida kompleks yaitu terdiri dari senyawa hasil kondensasi suatu gula dengan suatu senyawa hidroksil organik yang apabila dihidrolisis akan menghasilkan gula (glikon) dan non-gula (aglikon). Struktur saponin tersebut menyebabkan saponin bersifat seperti sabun atau deterjen sehingga saponin disebut sebagai surfaktan alami. Nama saponin diambil dari sifat utama yaitu “sapo” dalam bahasa latin berarti sabun (Bintoro, dkk., 2017).

Saponin merupakan metabolit sekunder yang mengandung gugus gula terutama glukosa, galaktosa, xylosa, rhamnosa atau methilpentosa yang berikatan dengan suatu aglikon hidrofobik berupa triterpenoid, steroid alkaloid. Sehingga saponin bersifat polar dan dapat larut dalam pelarut air. Saponin juga bersifat non polar karena memiliki gugus hidrofob yaitu aglikon. Oleh sebab itulah dapat terbentuk busa karena saponin terdispersi diantara senyawa polar dan non polar (Marliana dan Saleh, 2011).



(a)



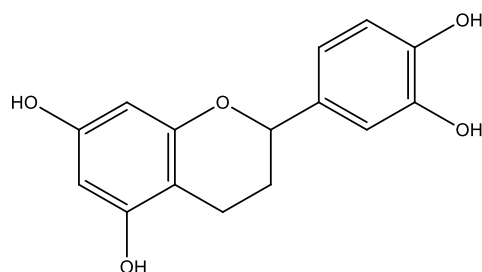
(b)

Gambar 2.10 (a) Struktur Saponin Tipe Triterpenoid dan (b) Struktur Saponin Tipe Steroid (Suriyawati, 2018)

2.8.4 Tanin

Tanin merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman. Tanin adalah senyawa yang mempunyai berat molekul 500-3000 dan mengandung sejumlah besar gugus hidroksi fenolik yang memungkinkan membentuk ikatan silang yang efektif dengan protein dan molekul lain seperti polisakarida, asam amino, asam lemak dan asam nukleat (Hidayah, 2016). Tanin terdapat pada tanaman senyawa polifenol dengan karakteristik dapat membentuk senyawa kompleks dengan makromolekul lainnya.

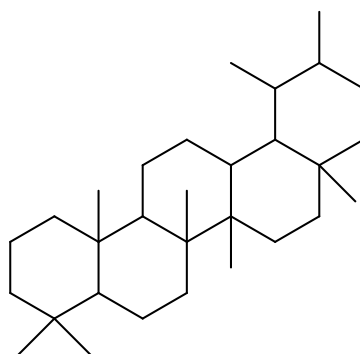
Tanin dibagi menjadi dua kelompok yaitu tanin mudah terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tanin mudah terhidrolisis merupakan polimer *gallic* atau *ellagic acid* yang berikatan ester dengan sebuah molekul gula, sedangkan tanin terkondensasi merupakan polimer senyawa flavonoid dengan ikatan karbon-karbon berupa catechin dan gallocatechin (Jayanegara dan Sofyan, 2008). Menurut Nugrahani, dkk., (2016) uji tanin dilakukan dengan ditambah larutan $\text{FeCl}_3 1\%$. Hasil positif uji tanin ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau kehitaman.



Gambar 2.11 Struktur Senyawa Tanin (Suriyawati, 2018)

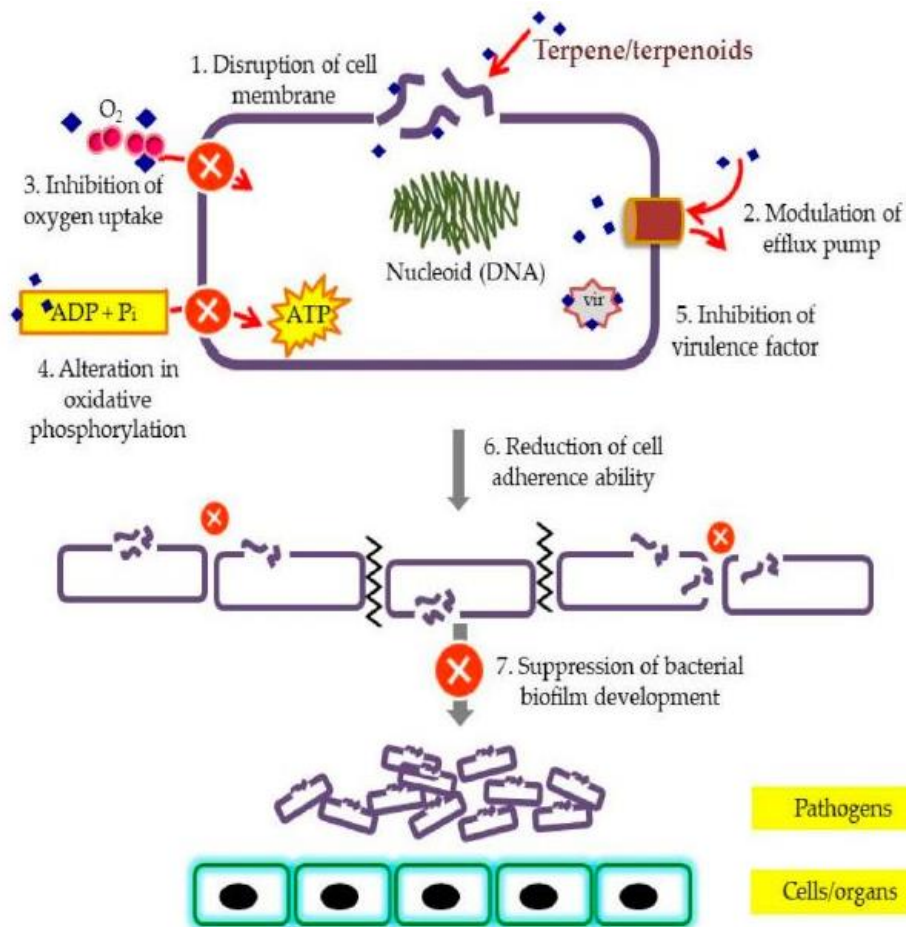
2.8.5 Triterpenoid

Triterpenoid merupakan senyawa yang memiliki kerangka karbon berasal dari enam satuan isopropena dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon asiklik, yaitu skualena. Senyawa tersebut merupakan senyawa tanpa warna berbentuk kristal. Senyawa triterpenoid pada tumbuhan berfungsi sebagai pertahanan terhadap serangga pengganggu dan faktor pengaruh pertumbuhan (Putra, dkk., 2016).



Gambar 2.12 Struktur Senyawa Triterpenoid (Robinson, 1995)

Uji triterpenoid dilakukan menggunakan reagen Lieberman-Burchard yang terdiri dari anhidrida asetat dan H_2SO_4 pekat. Hasil positif uji triterpenoid terdapat cincin berwarna kecoklatan (Nugrahani, dkk., 2016). Senyawa aktif triterpenoid memiliki kemampuan sebagai antibakteri yang bertujuan baik untuk gangguan membran sel bakteri, modulasi pompa aliran bakteri, penekanan perkembangan biofilm bakteri atau penghambatan beberapa faktor virulensi yang meliputi enzim dan racun (Mahizan, dkk., 2019). Dugaan mekanisme triterpenoid sebagai antibakteri ditunjukkan Gambar 2.12

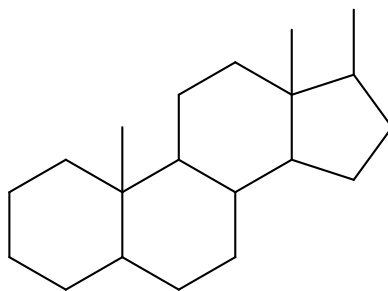


Gambar 2.13 Mekanisme triterpenoid sebagai antibakteri (Mahizan, dkk., 2019)

2.8.6 Steroid

Steroid merupakan senyawa turunan dari hidrokarbon 1,2 siklopentenoperhidrofenantrena. Steroid di alam terdapat pada hewan dan tumbuhan. Senyawa steroid pada hewan berhubungan erat dengan beberapa hormon dan keaktifan biologis lainnya, sedangkan pada tumbuhan steroid banyak terdapat baik pada tumbuhan tingkat tinggi maupun tumbuhan tingkat rendah. Steroid pada tumbuh-tumbuhan secara umum terdapat dalam bentuk sterol (Suryelita, dkk., 2017).

Senyawa ini memiliki beberapa kegunaan bagi tumbuhan yaitu sebagai pengatur pertumbuhan (seskuiterpenoid abisin dan giberelin), karotenoid sebagai pewarna dan memiliki peran dalam membantu proses fotosintesis. Kegunaannya dalam bidang farmasi digunakan sebagai bahan baku pembuatan obat. Senyawa fitosterol yang biasa terdapat pada tumbuhan tinggi yaitu sitosterol, stigmasterol dan kampesterol. Fitosterol merupakan senyawa steroida yang berasal dari tumbuhan (Putra, dkk., 2016). Uji steroid dilakukan menggunakan reagen Lieberman-Burchard yang terdiri dari anhidrida asetat dan H_2SO_4 pekat. Hasil positif uji steroid terdapat warna hijau kebiruan (Nugrahani, dkk., 2016).`



Gambar 2.14 Struktur Senyawa Steroid (Fessenden dan Fessenden, 1986)

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada tanggal 3 Agustus – 12 September 2020 di Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Autoklaf, *Laminar Air Flow*, serangkaian alat sonikasi, cawan petri, tabung reaksi, jarum ose, erlenmeyer, vortex, inkubator, neraca analitik, pinset, bunsen, kaca arloji, spatula, gelas ukur, gelas beaker, rak tabung reaksi, mikropipet, blue tip, mistar serangkaian alat *rotary evaporator*, *magnetic stirrer*, shaker, kertas Whattman No.1, kertas cakram, korek api, vial, labu ukur, pipet ukur, pipet tetes, serangkaian alat aerasi, tissue, dan kamera.

3.3 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian yaitu serbuk daun kelor, media Nutrient Agar (NA), media Nutrient Broth (NB), inokulum murni *E. coli* dan *S. aureus*, kertas cakram, aquades, spirtus, kapas, obat Doxycycline, alkohol 70%, reagen Dragendorff, reagen Meyer, serbuk Mg, reagen Liebermann-Burchad, HCl pekat, kloroform, DMSO, air laut, ragi, aluminium foil, plastik wrap, dan kertas label.

3.4 Tahapan Penelitian

1. Preparasi sampel
2. Analisis kadar air
3. Pembuatan ekstrak
 - a. Ekstraksi sonikasi
 - b. Ekstraksi maserasi
4. Identifikasi golongan senyawa aktif dalam daun kelor
5. Analisis aktivitas antibakteri
 - a. Sterilisasi alat
 - b. Pembuatan larutan kontrol
 - c. Pembuatan media
 - d. Peremajaan bakteri
 - e. Pembuatan suspensi bakteri uji (inokulum)
 - f. Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun kelor
6. Analisis toksisitas ekstrak terbaik dari uji antibakteri
 - a. Penetasan telur larva udang *Artemia salina* Leach
 - b. Uji toksisitas
7. Analisis data

3.5 Prosedur Kerja Penelitian

3.5.1 Preparasi Sampel

Daun kelor dikumpulkan dan dibersihkan dari kotoran yang menempel pada daun, kemudian dicuci dibawah air mengalir. Setelah bersih, daun kelor ditiriskan dan dikeringkan dengan dua cara yaitu diangin-anginkan selama 14 hari dan dikeringkan dengan dijemur dibawah sinar matahari selama 3 hari sambil dibolak

balik setiap hari. Sampel yang telah kering dihaluskan dengan blender hingga berubah menjadi tepung. Hasilnya diayak menggunakan ayakan 90 mesh hingga halus dan homogen (Dima, dkk., 2016).

3.5.2 Analisis Kadar Air

Cawan dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 105°C selama 1 jam, kemudian dimasukkan ke dalam desikator selama 15 menit dan ditimbang. Daun kelor yang telah dihaluskan ditimbang sebanyak 1 gr dan dimasukkan dalam cawan yang telah diketahui berat konstannya, selanjutnya dikeringkan di dalam oven pada suhu 100-105°C selama 1 jam, kemudian didinginkan dalam desikator selama 15 menit dan ditimbang. Perlakuan ini diulangi sampai tercapai berat konstan (Anwar, dkk., 2014).

$$\% \text{ Kadar Air} = \frac{(b - c)}{(b - a)} \times 100\%$$

keterangan : a = berat cawan kosong
 b = berat sampel + cawan sebelum dikeringkan
 c = berat sampel + cawan setelah dikeringkan

3.5.3 Pembuatan Ekstrak Daun Kelor

3.5.3.1 Ekstraksi Sonikasi

Ekstraksi sonikasi dilakukan dengan menimbang serbuk daun kelor sebanyak 25 gram dan ditambah dengan air sebanyak 250 mL, kemudian dimasukkan kedalam alat sonikasi dengan frekuensi 42 kHz selama 20 menit. Kemudian filtrat sampel disaring menggunakan kertas Whatman. Filtrat yang dihasilkan kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator vacuum* hingga dihasilkan ekstrak pekat (Handayani, dkk., 2015).

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat akhir sampel}}{\text{Berat awal sampel}} \times 100\%$$

3.5.3.2 Ekstraksi Maserasi

Ekstraksi maserasi dilakukan dengan menimbang 25 gram tepung daun kelor dan dilarutkan menggunakan air sebanyak 250 mL selama 24 jam serta dishaker dengan kecepatan 120 rpm. Kemudian filtrat sampel disaring menggunakan kertas Whatman. Filtrat yang dihasilkan kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator vacuum* hingga dihasilkan ekstrak pekat (Vinoth, dkk., 2012).

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat akhir sampel}}{\text{Berat awal sampel}} \times 100\%$$

3.5.4 Identifikasi Golongan Senyawa Aktif dalam Daun Kelor

Identifikasi golongan senyawa aktif adalah analisis kualitatif yang digunakan untuk mengetahui jenis senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam suatu bahan alam. Identifikasi kandungan senyawa aktif antara lain flavonoid, alkaloid, triterpenoid dan steroid, tanin, serta saponin.

3.5.4.1 Uji Flavonoid

Ekstrak daun kelor dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian dilarutkan dalam 1-2 mL metanol panas 50 %. Selanjutnya ditambah serbuk Mg dan 4-5 tetes HCl pekat. Warna merah atau jingga yang terbentuk, menunjukkan adanya flavonoid (Anwar, dkk., 2014).

3.5.4.2 Uji Alkaloid

Ekstrak daun kelor dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambah 0,5 mL HCl 2 % dan larutan dibagi dalam dua tabung. Tabung I ditambahkan 0,5

mL reagen Dragendorff, tabung II ditambahkan 0,5 mL reagen Meyer. Jika tabung I terbentuk endapan jingga dan pada tabung II terbentuk endapan kekuning-kuningan, menunjukkan adanya alkaloid (Anwar, dkk., 2014).

3.5.4.3 Uji Triterpenoid dan Steroid

Ekstrak daun kelor dimasukkan ke dalam tabung reaksi, dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform lalu ditambah dengan 0,5 mL asam asetat anhidrat. Campuran ini selanjutnya ditambah dengan 1-2 mL H_2SO_4 pekat melalui dinding tabung tersebut. Apabila hasil yang diperoleh berupa cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut menunjukkan adanya senyawa triterpenoid, sedangkan apabila terbentuk warna hijau kebiruan menunjukkan adanya steroid (Anwar, dkk., 2014).

3.5.4.4 Uji Tanin

Ekstrak daun kelor dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan dengan larutan FeCl_3 1 % sebanyak 1-2 tetes, apabila berubah warna menjadi hitam, maka menunjukkan sampel tersebut mengandung tanin (Anwar, dkk., 2014).

3.5.4.5 Uji Saponin

Ekstrak daun kelor dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambah air (1:1) sambil dikocok selama 1 menit, jika menimbulkan busa ditambahkan HCl 1N sebanyak 2-3 tetes, busa yang terbentuk dapat bertahan selama 10 menit dengan ketinggian 1-3 cm, maka ekstrak positif mengandung saponin (Anwar, dkk., 2014).

3.5.5 Analisis Aktivitas Antibakteri

3.5.5.1 Sterilisasi Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian disterilkan terlebih dahulu dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Sedangkan jarum ose dan pinset disterilkan dengan cara dibakar diatas api secara langsung dengan spirtus (Dima, dkk., 2016).

3.5.5.2 Pembuatan Larutan Kontrol

Larutan kontrol negatif digunakan DMSO 100% sedangkan larutan kontrol positif dibuat dari obat Doxycycline. Konsentrasi kontrol positif digunakan 250 µg/ml (Dima, dkk., 2016).

3.5.5.3 Pembuatan Media

Nutrient Agar (NA) seberat 8,4 gram dilarutkan dalam 300 ml aquades di dalam erlenmeyer dan ditutup dengan aluminium foil. Kemudian dihomogenkan dengan *stirer* diatas penangas air sampai mendidih. Media kemudian dituangkan ke dalam tabung reaksi steril dan ditutup dengan kapas dan aluminium foil. Selanjutnya media NA dalam tabung reaksi disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, kemudian tabung reaksi diletakkan dalam posisi miring dan dibiarkan sampai media memadat. Media agar miring digunakan untuk inokulasi bakteri (Dima, dkk., 2016).

Pembuatan media NB dilakukan dengan melarutkan NB sebanyak 1,3 gram dalam 100 ml aquades di dalam erlenmeyer kemudian ditutup menggunakan aluminium foil. Selanjutnya dihomogenkan dengan *stirer* diatas penangas air sampai mendidih. Media kemudian dituangkan ke dalam botol uc (kaca) steril dan ditutup dengan kapas dan plastik wrap yang dilakukan secara aseptik. Selanjutnya

media NB dalam botol uc (kaca) disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Dima, dkk., 2016).

3.5.5.4 Peremajaan Bakteri

Bakteri *E. coli* dan *S. aureus* dari inokulum murni diremajakan pada media agar miring dengan cara mensterilkan jarum ose diatas nyala api kemudian diambil bakteri sebanyak 1 ose, selanjutnya digoreskan secara aseptik pada media NA miring dan ditutup kembali dengan kapas dan plastik wrap, selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Dima, dkk., 2016).

3.5.5.5 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji (Inokulum)

Bakteri uji pada media agar miring yang telah diremajakan masing-masing diambil sebanyak 1 ose dengan jarum ose steril lalu dibiakkan ke dalam 8 mL media NB steril. Kemudian diinkubasi selama 18 jam dan diukur OD sebesar 0,5 menggunakan Spektrofotometri UV-vis pada panjang gelombang 600 nm (Doughari, dkk., 2007).

3.5.5.6 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kelor

Inokulum bakteri (biakan aktif) diambil sebanyak 100 µl ke dalam cawan petri steril, selanjutnya dituangkan media NA steril ke dalam cawan petri yang berisi biakan aktif bakteri dan digerakkan membentuk angka 8, kemudian ditunggu hingga media memadat. Kertas cakram direndam ke dalam larutan kontrol negatif DMSO, kontrol positif Doxycycline dan ekstrak daun kelor (*M. oleifera*) pada konsentrasi 250, 500, 750, 1000, dan 1250 ppm selama 60 menit agar ekstrak bisa meresap ke dalam kertas cakram. Kemudian kertas cakram yang telah direndam ekstrak dan kontrol kemudian diambil dan ditempatkan secara

aseptik pada permukaan media yang telah memadat dengan jarak yang sesuai dan tidak saling berdekatan sekitar 3cm dan jarak tepi media 2 cm. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam untuk nantinya diukur daya hambat ekstrak daun kelor terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Perlakuan uji antibakteri dilakukan sebanyak 3 kali ulangan pada masing- masing konsentrasi sampel (Vinoth, dkk., 2012).

Pengamatan dilakukan dengan melihat daerah bening yang merupakan petunjuk kepekaan bakteri terhadap antibiotik atau ekstrak daun kelor yang digunakan sebagai bahan uji yang dinyatakan dengan lebar diameter zona hambat. Diameter zona hambat diukur menggunakan mistar dalam satuan millimeter (mm). Rumus diameter zona hambat yaitu (Dima, dkk., 2016) :

$$\text{Zona hambat} = \text{diameter keseluruhan} - \text{diameter kertas cakram}$$

3.5.6 Analisis Toksisitas Ekstrak Terbaik dari Uji Antibakteri

3.5.6.1 Penetasan Telur Larva Udang *Artemia salina* Leach

Sebanyak 250 mL air laut dimasukkan ke dalam bejana penetasan, kemudian dimasukkan telur *Artemia salina* sebanyak ujung spatula dan ragi. Larutan ragi dibuat dengan melarutkan 3 mg ragi dalam 5 ml aquades kemudian divortex. Selanjutnya diaerasi dengan cara memberikan aerator ke dalam bejana penetasan dan lampu dinyalakan selama 48 jam untuk menetasakan telur. Larva yang sehat dan siap dijadikan hewan uji setelah berumur 48 jam. Larva udang *Artemia salina* Leach yang akan diuji diambil dengan menggunakan pipet tetes (Anwar, dkk., 2014).

3.5.6.2 Uji Toksisitas

Ekstrak pekat daun kelor terbaik uji antibakteri ditimbang sebanyak 50 mg dan dilarutkan dengan menggunakan air laut sebanyak 50 ml (membuat larutan stok 1000 ppm). Larutan yang diperoleh selanjutnya dipipet masing-masing sebanyak 250, 500, 1000, 2000, dan 4000 μ L, kemudian dimasukkan ke dalam botol vial 10 ml. Selanjutnya ditambah air laut secukupnya, 1 tetes larutan ragi, dan 0,1 ml DMSO lalu divortex. Kemudian dimasukkan 10 ekor larva udang *Artemia salina* dan ditambah air laut sampai tanda batas 10 ml. Untuk kontrol digunakan 3 macam kontrol yaitu kontrol tanpa ekstrak, kontrol DMSO, dan kontrol pelarut. Untuk kontrol tanpa ekstrak di dalam vial berisi aquades sebanyak 0,25 ml, 1 tetes ragi, DMSO 0,1 ml, air laut dan larva udang. Kontrol DMSO berisi DMSO 0,1 ml, 1 tetes ragi, air laut dan larva udang. Sedangkan kontrol pelarut berisi 0,25 ml pelarut, 1 tetes ragi, air laut dan larva udang (Anwar, dkk., 2014).

Pengamatan dilakukan selama 24 jam terhadap kematian larva udang. Kriteria standar untuk menilai kematian larva udang yaitu jika larva udang tidak menunjukkan pergerakan selama 10 detik observasi. Selanjutnya dihitung %mortalitas dari *Artemia salina* pada masing-masing konsentrasi dan ulangan dalam vial, menggunakan rumus sebagai berikut (Anwar, dkk., 2014):

$$\% \text{ mortalitas} = \frac{\text{Modus kematian larva}}{\text{Jumlah larva 1 vial (10)}} \times 100\%$$

$$\text{Mortalitas} = \frac{\% \text{ Mortalitas}}{100} \times \text{Jumlah seluruh larva dalam 1 konsentrasi (50)}$$

3.5.7 Analisis Data

3.5.7.1 Analisis Data Uji Aktivitas Antibakteri

Data aktivitas antibakteri dianalisis ragam melalui uji ANOVA dua arah (*Two Way ANOVA*) untuk menguji adanya pengaruh antar perlakuan variasi konsentrasi ekstrak daun kelor dan variasi preparasi sampel terhadap zona hambat yang dihasilkan. Apabila terdapat adanya pengaruh maka dilanjutkan dengan uji BNT dengan tingkat signifikansi 5% untuk mengetahui perlakuan yang berpengaruh atau berbeda nyata dengan perlakuan lain.

3.5.7.2 Analisis Data Uji Toksisitas Ekstrak Terbaik Uji Antibakteri

Data yang diperoleh berupa nilai hasil uji toksisitas dari kematian larva udang dengan pengaruh variasi konsentrasi ekstrak daun kelor kemudian dihitung %mortalitas dan mortalitasnya. Selanjutnya dianalisis menggunakan analisa data probit dengan program MINITAB untuk mengetahui nilai LC_{50} yang dihasilkan dari ekstrak dengan variasi konsentrasi.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Sampel

Sampel daun kelor (*M. oleifera*) dalam penelitian ini diperoleh dari daerah Kediri. Proses preparasi sampel meliputi pencucian, pengeringan, dan penghalusan. Proses pencucian bertujuan untuk menghilangkan kotoran yang melekat pada sampel. Kemudian proses pengeringan dilakukan untuk mengurangi kadar air dan mencegah tumbuhnya jamur dalam sampel sehingga dapat disimpan dalam jangka waktu yang lama sehingga komposisi kimia dalam sampel tidak mengalami perubahan. Menurut Hardiyanthi (2015) pengeringan dilakukan untuk mengurangi kadar air dan menghentikan proses enzimatik yang terjadi pada sampel, selain itu sampel akan lebih awet dan memudahkan pelarut dalam menarik komponen senyawa aktif dalam sampel saat proses ekstraksi. Pengeringan sampel dilakukan dengan menggunakan dua cara yaitu kering angin dan kering jemur. Menurut Widarta dan Wiadnyani (2019) pengeringan dengan sinar matahari merupakan proses pengeringan yang ekonomis, mudah, dan membutuhkan waktu yang singkat sedangkan pengeringan dengan angin merupakan pengeringan yang ekonomis, mudah, dan menjaga senyawa bioaktif dalam simplisia.

Proses pengeringan sampel untuk cara kering jemur dilakukan selama 3 hari sedangkan untuk cara kering angin dilakukan selama 14 hari. Hasil preparasi sampel menghasilkan serbuk kering untuk sampel kering angin sebesar 600 g dan sampel kering jemur sebesar 745 g. Menurut Winangsih, dkk., (2013) suhu

pengeringan yang digunakan akan mempengaruhi lama pengeringan. Semakin tinggi suhu maka akan semakin cepat proses transpirasi yaitu keluarnya air dari tubuh tanaman dalam bentuk uap air sehingga mempengaruhi jumlah air yang ada di dalam bahan, semakin tinggi suhu maka semakin singkat waktu yang dibutuhkan dan kadar air yang dihasilkan semakin rendah. Penghalusan sampel untuk memperbesar luas permukaan sampel sehingga kontak pelarut dan sampel dalam proses ekstraksi semakin besar. Menurut Anwar, dkk., (2014) semakin besar kontak antara sampel dan pelarut akan memungkinkan dinding sel yang rusak juga semakin besar, sehingga mempermudah pengambilan senyawa aktif dalam daun kelor oleh pelarut.

4.2 Penentuan Kadar Air

Penetapan kadar air pada sampel kering daun kelor (*M. oleifera*) bertujuan untuk mengetahui besarnya kandungan air di dalamnya yang berkaitan dengan kemurnian dan kontaminasi yang kemungkinan dapat terjadi (Azizah dan Slamah, 2013). Metode yang digunakan dalam penentuan kadar air yaitu metode thermogravimetri dimana prinsip dari metode ini adalah menguapkan air yang terkandung sampel dengan jalan pemanasan pada suhu 100-105°C kemudian menimbang sampel sampai didapat berat konstan (Asmediana, 2017).

Berdasarkan hasil pengukuran kadar air pada sampel daun kelor (*M. oleifera*) didapat kadar air sebagai berikut:

Tabel 4.1 Kadar Air Daun Kelor

| Daun kelor | Kadar Air |
|-------------------------|-----------|
| Daun kelor kering angin | 9,79% |
| Daun kelor kering jemur | 8,22% |

Simplisia standar merupakan simplisia yang memenuhi syarat mutu yang telah ditentukan Depkes diantaranya memenuhi kadar air standar yang ditetapkan. Menurut Samosir, dkk., (2018) perbedaan kadar air yang diperoleh diduga karena perbedaan suhu saat pengeringan, semakin tinggi suhu yang digunakan maka semakin cepat perpindahan panas ke dalam sampel dan semakin cepat penghilangan air dari sampel, serta udara yang bergerak dan mempunyai gerakan yang tinggi selain dapat mengambil uap air juga dapat menghilangkan uap air dari permukaan sampel tersebut. Berdasarkan data kadar air sampel yang didapat tidak sesuai dengan teori karena pada sampel kering jamur memiliki kadar air lebih kecil dari sampel kering angin. Pada sampel kering jamur memiliki berat kering lebih besar daripada sampel kering angin, seharusnya kadar air sampel kering jamur lebih besar dibandingkan dengan kadar air sampel kering angin. Menurut Luliana, dkk., (2016) semakin besar berat kering simplisia maka kadar air yang dihasilkan juga semakin tinggi.

Farmakope Herbal Indonesia dan Keputusan Menteri Kesehatan RI No.661/Menkes/SK/VII/1994 tentang Persyaratan Obat Tradisional, standar maksimum kadar air simplisia yaitu 10% (Manalu dan Adinegoro, 2018). Sehingga dapat diartikan hasil kadar air pada sampel kering jamur dan kering angin pada daun kelor (*M. oleifera*) tidak melebihi batas maksimum kadar air yang disyaratkan untuk ekstraksi serta sampel tersebut memenuhi standar penyimpanan yang aman terhadap pertumbuhan jamur maupun mikroba.

4.3 Ekstraksi Daun Kelor (*M. oleifera*)

Ekstraksi daun kelor (*M. oleifera*) dilakukan dengan 2 cara yaitu dengan menggunakan metode sonikasi dan metode maserasi dengan pelarut air pada

setiap masing-masing sampel. Ekstraksi sonikasi dilakukan dengan menggunakan alat sonikasi untuk proses ekstraksi sampel. Prinsip kerja sonikasi yaitu dengan memanfaatkan gelombang ultrasonik dimana generator listrik ultrasonik akan membuat sinyal listrik kemudian diubah menjadi getaran fisik yang memiliki efek sangat kuat terhadap larutan. Gelombang ultrasonik digunakan untuk membuat gelembung kavitasi pada material larutan. Ketika gelembung pecah dekat dengan dinding sel maka akan terbentuk gelombang kejut dan pancaran cairan yang akan membuat dinding sel pecah. Pecahnya dinding sel akan membuat komponen di dalam sel keluar menjadi partikel yang lebih kecil. Menurut Jos, dkk., (2011) energi dalam ultrasonik merupakan intensitas gelombang ultrasonik yang merambat dan membawa energi. Jika energi gelombang ultrasonik tersebut melalui medium cair, maka akan melepaskan energi kalor sehingga terjadi pemanasan yang mengakibatkan suhu medium cair meningkat dan kemudian menimbulkan efek kavitasi, yaitu pembentukan, pertumbuhan dan pecahnya gelembung didalam sebuah cairan. Ketika gelembung kavitasi pecah dekat dengan dinding sel maka akan terbentuk gelombang kejut yang menyebabkan dinding sel pecah. Pecahnya dinding sel akan membuat komponen dalam sel keluar.

Metode sonikasi dipilih karena meningkatkan hasil komponen yang diekstraksi, membutuhkan waktu yang singkat, laju perpindahan massa lebih cepat dan meningkatkan penetrasi dari cairan menuju dinding sel. Proses sonikasi dilakukan dengan menggunakan frekuensi 42 kHz selama 20 menit. Dalam Andrianto (2017) frekuensi 42 kHz digunakan karena dapat menghancurkan sel daun sehingga dapat mempercepat proses perpindahan massa senyawa aktif dari dalam sel ke pelarut. Selain itu pada frekuensi 42 kHz termasuk ke dalam

intensitas yang rendah sehingga tidak merusak bahan atau sampel. Proses ekstraksi ini bertujuan untuk memaksimalkan kontak antara pelarut dan sampel dimana pelarut akan menembus dinding sel dan mengesktrak komponen aktif yang terdapat dalam daun kelor (*M. oleifera*) secara maksimal. Ekstraksi maserasi dilakukan dengan merendam sampel pada suhu ruang dengan pengadukan atau *shaker*. Prinsip metode maserasi yaitu pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif sehingga zat aktif pada sampel dapat terekstrak. Hasil rendemen yang didapat dari ekstraksi daun kelor yaitu:

Tabel 4.2 Hasil Rendemen Ekatrak Daun Kelor

| Ekstrak Daun kelor | Rendemen |
|-----------------------------|-----------------|
| Sonikasi kelor kering angin | 30,36% |
| Sonikasi kelor kering jemur | 40,48% |
| Maserasi kelor kering angin | 14,76% |
| Maserasi kelor kering jemur | 17,84% |

Nilai rendemen pada ekstrak sonikasi lebih tinggi disebabkan pada metode sonikasi terjadi kavitasi disebabkan adanya gelombang ultrasonik untuk memecah dinding sel sampel. Kavitasi merupakan proses pembentukan gelembung-gelembung mikro karena meningkatnya tekanan saat proses ekstraksi sebagai akibat dari adanya gelombang ultrasonik. Gelembung-gelembung ini tidak stabil sehingga mudah pecah ketika gelembung mencapai volume maksimal dalam menyerap energi. Ketika gelembung kavitasi pecah dekat dengan dinding sel maka akan terbentuk gelombang kejut yang menyebabkan dinding sel pecah dan membantu kontak antara pelarut dan sampel dalam proses ekstraksi sehingga hasil ekstraksi lebih maksimal (Sani, dkk., 2014). Menurut Kumala (2007) semakin

kecil kadar air maka semakin mudah pelarut mengekstrak komponen senyawa aktif sehingga rendemen yang dihasilkan lebih banyak, pada sampel kering jamur rendemen yang dihasilkan lebih banyak dari sampel kering angin, hal ini dimungkinkan karena kadar air sampel kering jamur lebih rendah dibanding sampel kering angin.

Ekstraksi menggunakan sonikasi semakin lama waktu ekstraksi yang digunakan maka kontak sampel dengan pelarut akan semakin besar sehingga hasilnya juga akan bertambah hingga titik jenuh larutan. Menurut Adiwibowo, dkk., (2020) semakin lama waktu kontak antara simplisia dengan solven maka semakin banyak transfer massa yang terjadi dan transfer massa akan terhenti saat konsentrasi pada simplisia sama dengan konsentrasi pada solven. Waktu ekstraksi yang terlalu lama dan melebihi batas optimum akan merusak senyawa yang diekstrak dari sampel (Andriani, dkk., 2019). Berdasarkan penelitian yang dilakukan Rachmawati dan Suriawati (2019) hasil rendemen ekstrak air daun kelor didapatkan sebesar 10,31%. Selain itu, menurut penelitian Dzieciol (2020) melakukan ekstraksi daun kelor dengan berbagai metode ekstraksi menggunakan pelarut etanol 96% menghasilkan ekstraksi sonikasi yang paling efektif dibandingkan ekstraksi maserasi dan ekstraksi soxhlet dengan hasil rendemen yang paling tinggi yaitu 198 mg/g.

4.4 Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Daun Kelor (*M. oleifera*)

Identifikasi golongan senyawa aktif yang terkandung dalam daun kelor (*M. oleifera*) dilakukan dengan uji fitokimia. Uji fitokimia merupakan uji kualitatif yang digunakan sebagai dugaan awal untuk mengidentifikasi golongan senyawa yang terkandung dalam daun kelor (*M. oleifera*) yang memberi aktivitas sebagai

antibakteri. Golongan senyawa aktif yang diuji yaitu flavonoid, alkaloid, triterpenoid, steroid, tanin, dan saponin. Berdasarkan hasil pengamatan diperoleh hasil uji fitokimia ekstrak daun kelor (*M. oleifera*) pada Tabel 4.3

Tabel 4.3 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Air Daun Kelor (*M. oleifera*)

| Golongan Senyawa Aktif | Ekstrak Air Daun Kelor (<i>M. oleifera</i>) | | | |
|---------------------------|---|--------------|--------------|--------------|
| | Sonikasi | Sonikasi | Maserasi | Maserasi |
| | Kering Angin | Kering Jemur | Kering Angin | Kering Jemur |
| Flavonoid | + | ++ | + | + |
| Alkaloid | | | | |
| a. Dragendorff | + | + | + | + |
| b. Meyer | ++ | ++ | + | + |
| Triterpenoid | ++ | ++ | + | ++ |
| Steroid | - | - | - | - |
| Tanin | - | - | - | - |
| Saponin | + | ++ | ++ | ++ |

Keterangan : Tanda ++ = Terkandung senyawa lebih/warna pekat

Tanda + = Terkandung senyawa/warna sedikit pudar

Tanda - = Tidak terkandung senyawa/tidak terbentuk warna

Berdasarkan Tabel 4.3 didapat bahwa dalam daun kelor (*M. oleifera*) ekstrak maserasi sampel kering angin maupun kering jemur diduga terdapat golongan senyawa flavonoid, alkaloid, triterpenoid, dan saponin dengan kandungan senyawa lebih yaitu golongan saponin pada sampel kering angin dan golongan triterpenoid dan saponin pada sampel kering jemur. Sedangkan pada daun kelor (*M. oleifera*) ekstrak sonikasi sampel kering angin maupun kering jemur diduga terdapat golongan senyawa flavonoid, alkaloid, triterpenoid, dan saponin dimana kandungan senyawa aktif tersebut lebih banyak dibandingkan dengan senyawa aktif daun kelor (*M. oleifera*) hasil ekstrak maserasi. Hal ini diduga karena pada

ekstraksi sonikasi menggunakan gelombang ultrasonik yang mengakibatkan kavitasi yang berfungsi untuk membantu membuka membran sel sehingga memudahkan dalam mengekstrak senyawa dan senyawa aktif yang dihasilkan akan lebih banyak (Sani, dkk., 2014).

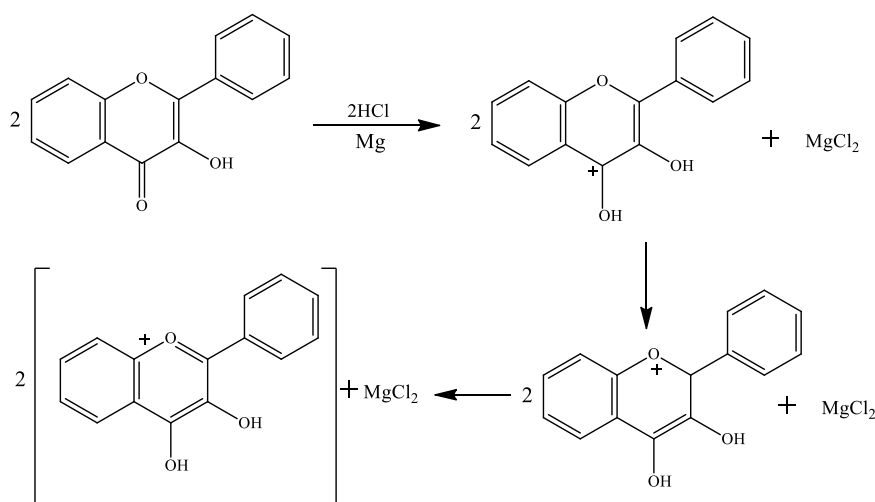
Hasil negatif senyawa metabolit sekunder pada ekstrak diduga karena perbedaan kepolaran antara senyawa metabolit sekunder dengan pelarut sehingga saat ekstraksi senyawa tersebut tidak ikut terekstrak oleh pelarut. Selain itu, pada ekstraksi sonikasi jika waktu ekstraksi yang melampaui batas waktu optimum, maka senyawa yang terkandung dalam ekstrak akan hilang karena terjadi penguapan, atau sebaliknya jika waktu ekstraksi tidak optimum atau terlalu singkat menyebabkan tidak semua senyawa metabolit sekunder terekstrak dari sampel. Menurut Halimah, dkk., (2019) perendaman dalam ekstraksi maserasi dapat menyebabkan terjadinya peristiwa plasmolisis dan pemecahan dinding sel, sehingga senyawa steroid dan triterpenoid yang terdapat pada dinding sel akan ikut pecah. Penelitian yang dilakukan oleh Pawaskar dan Sasangan (2017) dimana pada ekstrak air daun kelor menunjukkan adanya golongan senyawa alkaloid, saponin, dan flavonoid. Selain itu pada penelitian yang dilakukan Anwar, dkk., (2014) hasil uji fitokimia menggunakan ekstrak akuades panas (70°C) menunjukkan adanya golongan senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, dan triterpenoid. Golongan senyawa aktif yang diperoleh dalam penelitian ini dapat dijelaskan sebagai berikut:

4.4.1 Flavonoid

Uji golongan senyawa flavonoid dilakukan untuk mengetahui keberadaan senyawa flavonoid dalam ekstrak daun kelor (*M. oleifera*). Uji flavonoid

dilakukan dengan mengambil sedikit ekstrak daun kelor (*M. oleifera*) dan ditambah dengan metanol 50% panas kemudian ditambahkan serbuk Mg serta HCl pekat. Penambahan HCl pekat bertujuan untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikonnya, yaitu dengan menghidrolisis O-glikosil. Glikosil akan tergantikan oleh H^+ dari asam karena sifatnya yang elektrofilik. Reduksi dengan Mg dan HCl pekat dapat menghasilkan senyawa kompleks yang berwarna merah atau jingga (Ikalinus, dkk., 2015).

Berdasarkan uji senyawa flavonoid ekstrak daun kelor (*M. oleifera*) menunjukkan hasil positif mengandung flavonoid yaitu ekstrak maserasi dan ekstrak sonikasi daun kelor (*M. oleifera*) dengan sampel kering angin dan kering jemur yang ditandai dengan terbentuknya warna merah atau jingga. Dugaan reaksi flavonoid dengan logam Mg dan Cl ditunjukkan pada Gambar 4.1



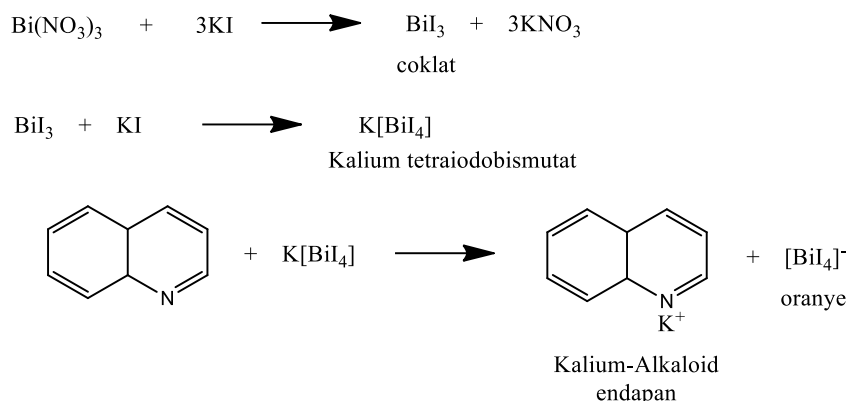
Gambar 4.1 Reaksi Dugaan Flavonoid dengan Logam Mg dan Cl (Ergina, dkk., 2014)

Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang mudah larut dalam pelarut polar seperti air, etanol, metanol, dan aseton. Flavonoid bersifat polar karena

mengandung sejumlah gula sehingga akan larut dalam pelarut polar (Rachmawati dan Suriawati, 2019). Senyawa fenol dengan gugus hidroksil semakin banyak memiliki tingkat kelarutan dalam air semakin besar atau bersifat polar, sehingga dapat terekstrak dalam pelarut-pelarut polar (Ergina, dkk., 2014).

4.4.2 Alkaloid

Uji golongan senyawa alkaloid ekstrak daun kelor (*M. oleifera*) dilakukan dengan menambahkan HCl terlebih dahulu karena alkaloid bersifat basa sehingga diekstrak dengan pelarut yang mengandung asam (Marliana, dkk., 2005). Tujuan ditambahkan HCl untuk meningkatkan kelarutan alkaloid karena senyawa alkaloid akan bereaksi dengan asam klorida sehingga akan membentuk garam yang mudah larut dalam air (Harborne, 1987). Uji golongan senyawa alkaloid dilakukan menggunakan reagen Dragendorff dan reagen Meyer, dimana terdapat endapan yang menunjukkan hasil positif ekstrak mengandung senyawa alkaloid. Hasil positif dari pereaksi Dragendorff yang bereaksi dengan alkaloid akan membentuk endapan berwarna jingga sedangkan pereaksi Meyer akan membentuk endapan berwarna putih kekuningan. Alkaloid merupakan senyawa metabolit sekunder yang memiliki sifat semi polar. Pada umumnya, alkaloid larut dalam pelarut organik namun ada beberapa yang larut dalam air seperti pseudoalkaloid dan protoalkaloid. Selain itu, alkaloid yang larut dalam air yaitu garam alkaloid dan alkaloid quartener (Puspitasari, 2018). Dugaan reaksi uji Dragendorff ditunjukkan pada Gambar 4.2

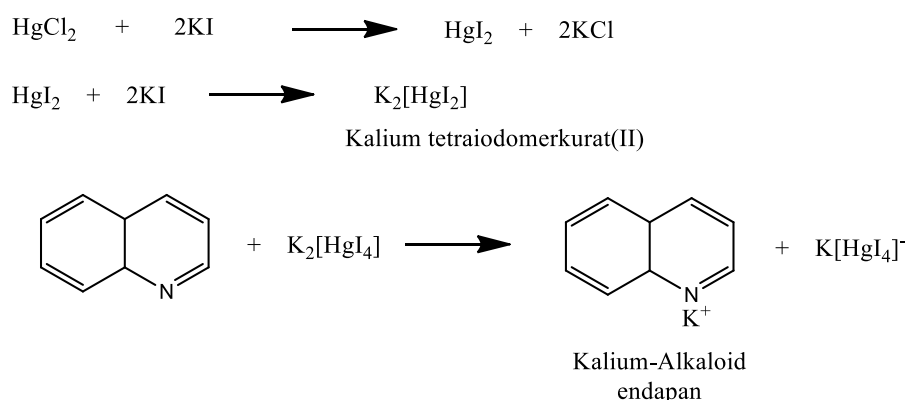


Gambar 4.2 Reaksi Dugaan Uji Dragendorff (Bintari dan Elyani, 2017)

Uji Dragendorff dilakukan dengan membuat reagen Dragendorff yang terbuat dari bismut nitrat bereaksi dengan kalium iodida membentuk endapan bismut (III) iodida yang selanjutnya terlarut dalam iodida berlebih membentuk kalium tetraiodobismutat. Reaksi antara alkaloid dan reagen Dragendorff akan terjadi pergantian ligan dimana nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas pada alkaloid membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion K^+ dari kalium tetraiodobismutat menghasilkan kompleks kalium-alkaloid yang mengendap (Haryati, dkk., 2015). Hasil yang diperoleh dari penelitian ini ekstrak yang menunjukkan hasil positif mengandung alkaloid yaitu ekstrak maserasi dan ekstrak sonikasi daun kelor (*M. oleifera*) dengan sampel kering angin dan kering jamur yang ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna jingga.

Uji Meyer dilakukan dengan membuat reagen Meyer yang terbuat dari larutan merkuriem (II) klorida ditambah dengan kalium iodida yang akan bereaksi membentuk endapan merah merkuriem (II) iodida, apabila kalium iodide ditambahkan berlebih maka terbentuk kalium tetraiodomerkurat (II). Pada uji alkaloid dengan pereaksi Meyer, nitrogen pada alkaloid diperkirakan akan bereaksi dengan ion logam K^+ dari kalium tetraiodomerkurat (II) dan membentuk

kompleks kalium-alkaloid yang mengendap (Marliana, dkk., 2005). Hasil yang diperoleh dari penelitian ini ekstrak yang menunjukkan hasil positif mengandung alkaloid yaitu ekstrak maserasi dan ekstrak sonikasi daun kelor (*M. oleifera*) dengan sampel kering angin dan kering jamur yang ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna putih kekuningan. Dugaan reaksi uji Meyer ditunjukkan pada Gambar 4.3



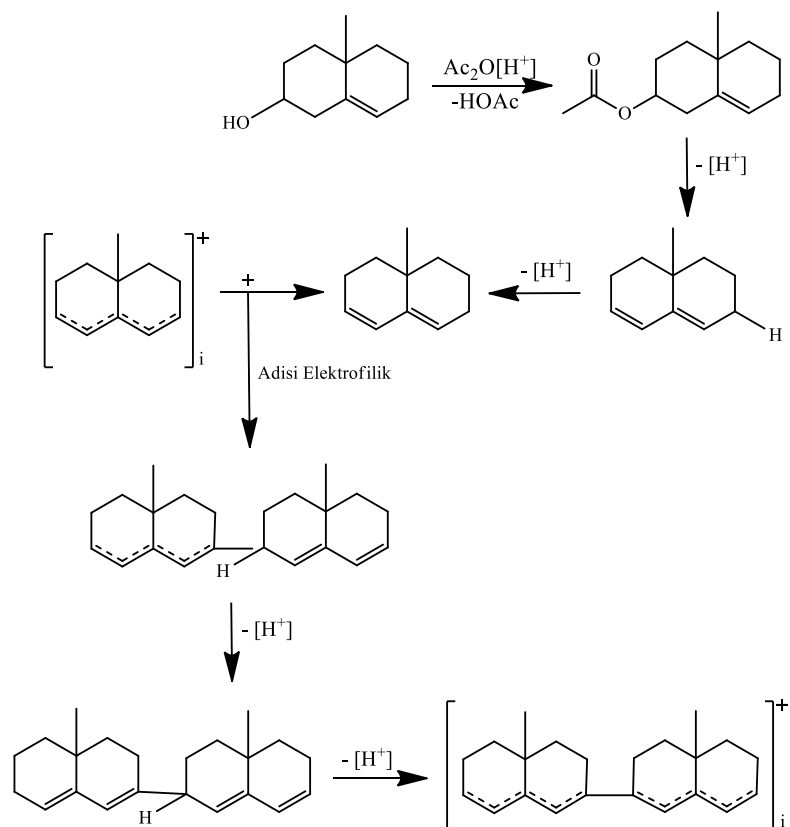
Gambar 4.3 Reaksi Dugaan Uji Meyer (Bintara dan Elyani, 2017)

4.4.3 Triterpenoid dan Steroid

Identifikasi senyawa triterpenoid dan steroid ekstrak daun kelor (*M. oleifera*) dilakukan dengan melarutkan ekstrak dalam kloroform dan ditambahkan reagen Liebermann-Burchard yang terdiri dari asetat anhidrat dan H_2SO_4 pekat. Sampel dinyatakan positif apabila setelah ditambah larutan asetat anhidrat dan H_2SO_4 pekat terbentuk cincin kecoklatan menunjukkan adanya senyawa triterpenoid sedangkan adanya perubahan warna menjadi hijau kebiruan menunjukkan adanya senyawa steroid (Nugrahani, dkk., 2016). Hal ini disebabkan adanya kemampuan senyawa triterpenoid dan steroid membentuk warna oleh H_2SO_4 pada pelarut asetat anhidrat (Ergina, dkk., 2014).

Berdasarkan uji senyawa triterpenoid ekstrak daun kelor (*M. oleifera*) menunjukkan hasil positif mengandung triterpenoid yaitu ekstrak maserasi dan ekstrak sonikasi daun kelor (*M. oleifera*) dengan sampel kering angin dan kering jemur yang ditandai dengan terbentuknya cincin kecoklatan setelah ditambah dengan H_2SO_4 pekat pada perbatasan dua larutan. Perubahan warna terjadi disebabkan adanya reaksi oksidasi golongan senyawa triterpenoid yang menghasilkan gugus kromofor melalui pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi. Hal ini disebabkan adanya reaksi kondensasi atau pelepasan H_2O dan penggabungan dengan karobokation.

Hasil yang diperoleh dari uji senyawa steroid ekstrak daun kelor (*M. oleifera*) menunjukkan hasil negatif atau tidak mengandung senyawa steroid baik ekstrak maserasi maupun ekstrak sonikasi daun kelor (*M. oleifera*) dengan sampel kering angin dan kering jemur karena pada semua ekstrak daun kelor (*M. oleifera*) tidak terbentuk warna hijau kebiruan. Hal ini dikarenakan senyawa triterpenoid memiliki struktur siklik yang berupa alkohol dan memiliki gugus OH yang dapat terikat dengan gugus gula sehingga dapat tertarik oleh pelarut yang bersifat semi polar maupun pelarut polar. Sedangkan steroid tergolong dalam senyawa triterpenoid yang merupakan salah satu jenis lemak sehingga dapat larut dalam pelarut non polar atau semi polar (Astarina, dkk., 2013). Persamaan reaksi triterpenoid dengan reagen Liebermann-Burchad ditunjukkan pada Gambar 4.4



Gambar 4.4 Reaksi Dugaan Triterpenoid dengan Reagen Liebermann-Burchad
(Nugrahani, dkk., 2016)

Reagen Liebermann-Burchad merupakan larutan yang terdiri dari asetat anhidrat dan H_2SO_4 pekat. Reaksi ini diawali dengan proses asetilasi gugus hidroksil menggunakan asam asetat anhidrida. Gugus asetil yang merupakan gugus pergi yang baik akan lepas, sehingga terbentuk ikatan rangkap. Kemudian terjadi pelepasan gugus hidrogen beserta elektronnya, mengakibatkan ikatan rangkap berpindah. Senyawa akan mengalami resonansi yang bertindak sebagai elektrofil atau karbokation. Serangan karbokation menyebabkan adisi elektrofilik, diikuti pelepasan hidrogen. Kemudian gugus hidrogen beserta elektronnya dilepas, akibatnya senyawa mengalami perpanjangan konjugasi yang menghasilkan munculnya cincin kecoklatan (Nugrahani, dkk., 2016).

4.4.4 Tanin

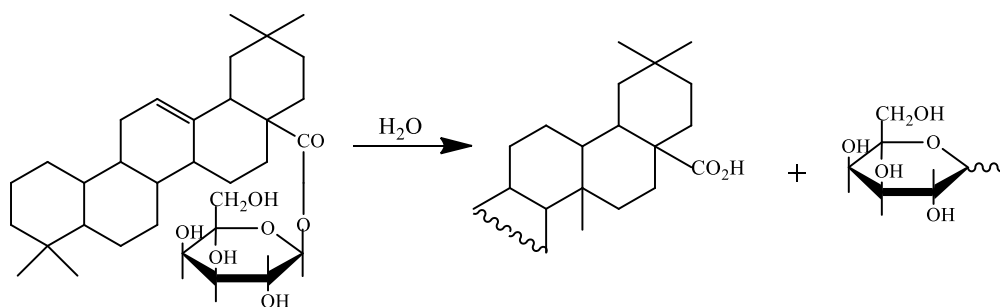
Identifikasi senyawa tanin ekstrak daun kelor (*M. oleifera*) dilakukan dengan menambah reagen FeCl_3 1%. Penambahan reagen FeCl_3 1% digunakan untuk menentukan adanya gugus fenol dalam ekstrak karena tanin merupakan senyawa polifenol. Hasil positif adanya gugus fenol ditunjukkan dengan warna hijau kehitaman atau biru tua. Adanya warna hijau kehitaman atau biru tua pada ekstrak setelah ditambahkan FeCl_3 karena terbentuknya kompleks antara tanin dengan ion Fe^{3+} . Terbentuknya senyawa kompleks antara tanin dan FeCl_3 disebabkan adanya ion Fe^{3+} sebagai atom pusat dan tanin memiliki atom O yang mempunyai pasangan elektron bebas yang bisa mengkoordinasikan ke atom pusat sebagai ligannya (Ergina, dkk., 2014).

Hasil yang diperoleh dari uji senyawa tanin ekstrak daun kelor (*M. oleifera*) menunjukkan hasil negatif atau tidak mengandung senyawa tanin baik ekstrak maserasi maupun ekstrak sonikasi daun kelor (*M. oleifera*) dengan sampel kering angin dan kering jemur karena pada semua ekstrak daun kelor (*M. oleifera*) tidak terbentuk warna hijau kehitaman atau biru tua pada ekstrak setelah ditambahkan FeCl_3 1%. Menurut Septiana dan Asnani (2012) senyawa tanin bersifat semi polar sehingga kurang terekstrak oleh pelarut non polar maupun pelarut polar seperti air.

4.4.5 Saponin

Identifikasi senyawa saponin dilakukan dengan uji busa dimana ekstrak daun kelor (*M. oleifera*) ditambahkan dengan akuades dan dilakukan pengocokan, jika menimbulkan busa ditambahkan HCl 1N sebanyak 2-3 tetes. Apabila terdapat senyawa saponin ditunjukkan dengan adanya busa yang bertahan selama 10 menit.

Saponin mengandung gugus hidrofilik dan hidrofobik sebagai gugus polar dan gugus non polar sehingga bersifat aktif permukaan dan membentuk misel saat dikocok dengan air. Pada struktur misel gugus non polar menghadap ke dalam sedangkan gugus polar menghadap ke luar dan keadaan ini yang tampak seperti busa (Haryati, dkk., 2015). Persamaan reaksinya ditunjukkan pada Gambar 4.5



Gambar 4.5 Reaksi Dugaan Uji Saponin (Nugrahani, dkk., 2016)

Uji saponin apabila terdapat busa maka penambahan HCl 1 N bertujuan untuk menambah kepolaran sehingga gugus hidrofil akan berikatan lebih stabil dan buih yang terbentuk menjadi stabil (Simaremare, 2014). Hasil yang diperoleh dari penelitian ini ekstrak yang menunjukkan hasil positif mengandung saponin yaitu ekstrak maserasi dan ekstrak sonikasi daun kelor (*M. oleifera*) dengan sampel kering angin dan kering jemur yang ditandai dengan terbentuknya busa. Saponin merupakan senyawa yang memiliki gugus hidrofilik berupa rantai samping polar sehingga larut dalam pelarut air dan saponin memiliki gugus hidrofobik berupa aglikon (sapogenin) yang bersifat non polar (Rachmawati dan Suriawati, 2019).

Ekstrak daun kelor (*M. oleifera*) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S.a ureus* disebabkan memiliki kandungan senyawa aktif. Hal ini dibuktikan dengan uji fitokimia senyawa aktif dalam ekstrak daun kelor (*M.*

oleifera) didapat hasil yang menunjukkan bahwa ekstrak daun kelor (*M. oleifera*) mengandung senyawa aktif diantaranya flavonoid, alkaloid, triterpenoid, dan saponin. Menurut penelitian yang dilakukan Amabye dan Tadesse (2016) kandungan senyawa aktif daun kelor berperan aktif melawan virus dan mikroba yang dibuktikan dengan hasil uji fitokimia ekstrak air daun kelor mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, steroid, serta tanin yang berpotensi sebagai antibakteri dengan menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*, *S. epidermis*, *P. vulgaris*, *B. subtilis*, dan *S. mutans*.

4.5 Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi cakram. Prinsip dari metode ini yaitu terdifusinya zat antibakteri pada media padat dengan dilakukan pengamatan pada daerah pertumbuhan bakteri. Metode ini dapat menentukan sensitivitas bakteri dengan suatu zat tertentu yang memiliki kemungkinan menghambat aktivitas antibakteri dengan menggunakan cakram kertas yang ditandai dengan terbentuknya zona bening. Semakin besar zona bening yang dihasilkan maka semakin efektif zat tersebut berperan sebagai antibakteri.

Uji aktivitas antibakteri digunakan kontrol positif dan kontrol negatif. Kontrol positif digunakan untuk membandingkan hasil aktivitas antibakteri ekstrak daun kelor (*M. oleifera*) dengan antibiotik sintetis atau obat yang sudah tersedia. Kontrol positif yang digunakan yaitu Doxycycline untuk bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Doxycycline adalah semi sintetis bakteriostatik dan antibiotik yang memiliki spektrum luas terhadap bakteri aerob maupun anaerob gram negatif dan gram positif, dan beberapa protozoa (Krisnaningsih, dkk., 2005).

Kontrol negatif yang digunakan yaitu DMSO. Pada konsentrasi ekstrak digunakan pelarut DMSO karena dapat melarutkan senyawa polar maupun nonpolar serta tidak mempengaruhi hasil pengamatan aktivitas antibakteri. Menurut Amalia, dkk., (2014) kontrol negatif DMSO dengan berbagai konsentrasi terbukti tidak memiliki aktivitas antibakteri, sehingga dapat dipastikan aktivitas antibakteri yang dihasilkan murni dari ekstrak tanpa pengaruh dari pelarutnya. Zona hambat hasil dari kertas cakram yang terdapat ekstrak selanjutnya dibandingkan dengan zona hambat hasil dari kertas cakram yang terdapat kontrol positif dan negatif.

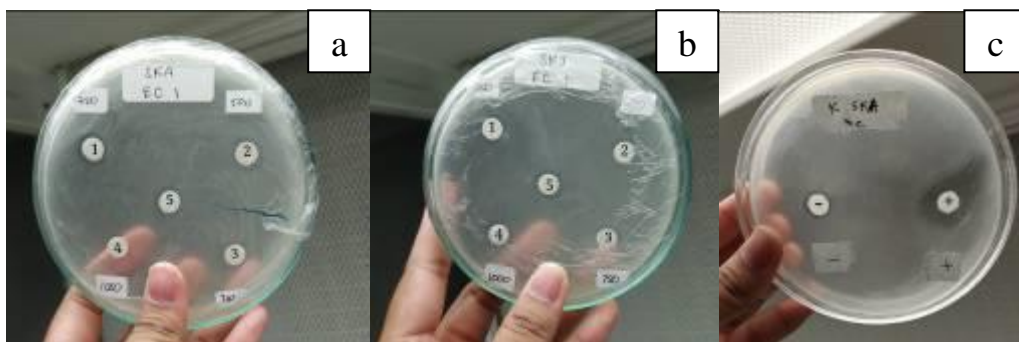
Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan variasi konsentrasi ekstrak 250, 500, 750, 1000, dan 1250 $\mu\text{g/mL}$ untuk mengetahui pengaruh pemberian konsentrasi ekstrak yang berbeda terhadap pertumbuhan bakteri. Menurut Wilapangga dan Syaputra (2018) ketentuan kekuatan daya antibakteri pada daerah hambat >20 mm termasuk sangat kuat, daerah hambat 10 – 20 mm termasuk kategori kuat, daerah hambat 5 – 10 mm kategori sedang, dan daerah hambat <5 mm termasuk kategori lemah. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak maserasi dan sonikasi sampel kering angin dan kering jamur terhadap bakteri *E. coli* ditunjukkan pada Tabel 4.4

Tabel 4.4 Zona Hambat Ekstrak Air Daun Kelor terhadap Bakteri *E.coli*

| Konsentrasi Ekstrak ($\mu\text{g/ml}$) | Rata-rata Zona Hambat Ekstrak Air Daun Kelor (mm) | | | |
|--|---|--------------|--------------|--------------|
| | Sonikasi | | Maserasi | |
| | Kering Angin | Kering Jemur | Kering Angin | Kering Jemur |
| 250 | 1,58 | 1,65 | 1,83 | 1,55 |
| 500 | 2,87 | 2,67 | 2,79 | 2,68 |
| 750 | 3,77 | 3,50 | 3,27 | 3,47 |
| 1000 | 4,50 | 4,73 | 3,77 | 3,90 |

| | | | | |
|-----------------|------|-------|------|------|
| 1250 | 5,40 | 5,75 | 4,57 | 4,67 |
| Kontrol positif | | 10,86 | | |
| Doxycycline | | | | |
| Kontrol negatif | | 0 | | |
| DMSO | | | | |

Berdasarkan Tabel 4.4 didapat bahwa ekstrak daun kelor (*M. oleifera*) menggunakan ekstraksi sonikasi memiliki hasil zona hambat yang lebih besar dibandingkan dengan ekstraksi maserasi terhadap bakteri *E. coli*. Hal ini menunjukkan bahwa pada ekstraksi sonikasi diperoleh senyawa aktif yang lebih memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Hasil zona hambat yang diperoleh pada ekstrak daun kelor (*M. oleifera*) menggunakan ekstraksi sonikasi terhadap bakteri *E. coli* terdapat pada Gambar 4.6

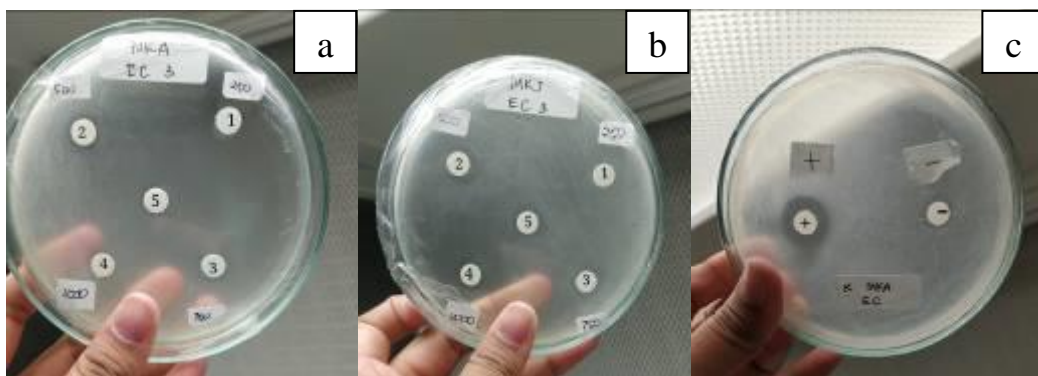


Gambar 4.6 (a) Zona Hambat Ekstrak Sonikasi Sampel Kering Angin terhadap *E. coli* (b) Zona Hambat Ekstrak Sonikasi Sampel Kering Jemur terhadap *E. coli* dan (c) Kontrol

Berdasarkan Gambar 4.6 pada bagian (a) didapat ekstrak daun kelor (*M. oleifera*) dengan sonikasi sampel kering angin mengalami peningkatan zona hambat dari konsentrasi 250 µg/ml sampai 1250 µg/ml yaitu sebesar 1,58 mm hingga 5,40 mm. Begitu pula untuk ekstrak daun kelor (*M. oleifera*) dengan sonikasi sampel kering jamur pada bagian (b) juga mengalami peningkatan zona

hambat dari konsentrasi terkecil 250 $\mu\text{g/ml}$ sebesar 1,65 mm sampai konsentrasi terbesar 1250 $\mu\text{g/ml}$ yaitu sebesar 5,75 mm. Sehingga dapat disimpulkan bahwa aktivitas antibakteri ekstrak daun kelor (*M. oleifera*) menggunakan ekstraksi sonikasi dengan sampel kering angin maupun kering jamur terhadap bakteri *E. coli* pada konsentrasi tertinggi termasuk dalam golongan sedang (5 - 10 mm).

Zona hambat yang dihasilkan dari ekstrak daun kelor (*M. oleifera*) dengan maserasi terhadap bakteri *E. coli* terdapat pada Gambar 4.7



Gambar 4.7 (a) Zona Hambat Ekstrak Maserasi Sampel Kering Angin terhadap *E. coli* (b) Zona Hambat Ekstrak Maserasi Sampel Kering Jamur terhadap *E. coli* dan (c) Kontrol

Berdasarkan Gambar 4.7 pada bagian (a) didapat ekstrak daun kelor (*M. oleifera*) dengan maserasi sampel kering angin mengalami peningkatan zona hambat dari konsentrasi 250 $\mu\text{g/ml}$ sampai 1250 $\mu\text{g/ml}$ yaitu sebesar 1,83 mm hingga 4,57 mm. Begitu pula untuk ekstrak daun kelor (*M. oleifera*) dengan maserasi sampel kering jamur pada bagian (b) juga mengalami peningkatan zona hambat dari konsentrasi 250 $\mu\text{g/ml}$ sampai 1250 $\mu\text{g/ml}$ yaitu sebesar 1,55 mm hingga 4,67 mm. Sehingga dapat disimpulkan bahwa aktivitas antibakteri ekstrak daun kelor (*M. oleifera*) menggunakan ekstraksi maserasi dengan sampel kering angin

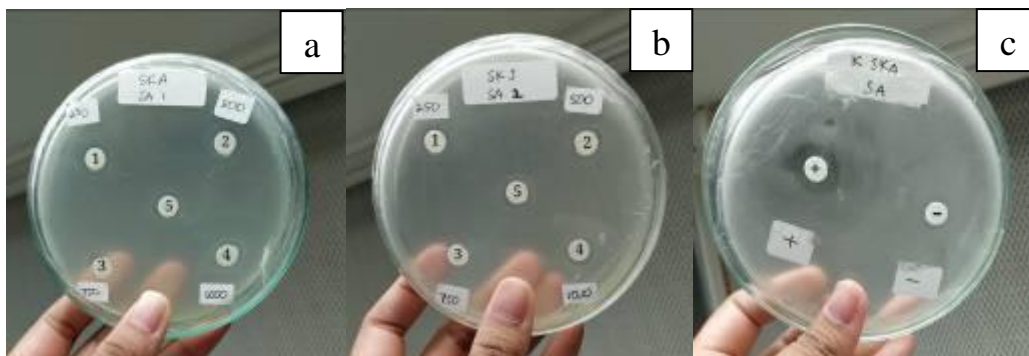
maupun kering jamur terhadap bakteri *E. coli* termasuk golongan lemah karena memiliki zona hambat <5 mm.

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak sonikasi dan maserasi sampel kering angin dan kering jamur terhadap bakteri *S. aureus* ditunjukkan pada Tabel 4.5

Tabel 4.5 Zona Hambat Ekstrak Air Daun Kelor terhadap Bakteri *S. aureus*

| Konsentrasi | Rata-rata Zona Hambat Ekstrak Air Daun Kelor (mm) | | | |
|-----------------|---|--------------|--------------|--------------|
| ekstrak | Sonikasi | Sonikasi | Maserasi | Maserasi |
| (µg/ml) | Kering Angin | Kering Jamur | Kering Angin | Kering Jamur |
| 250 | 1,93 | 2,00 | 1,47 | 2,10 |
| 500 | 3,07 | 3,08 | 2,61 | 2,87 |
| 750 | 3,55 | 3,65 | 3,40 | 3,13 |
| 1000 | 3,98 | 4,60 | 3,93 | 3,55 |
| 1250 | 4,85 | 5,58 | 4,30 | 4,17 |
| Kontrol positif | | | | |
| Doxycycline | | | 10,73 | |
| Kontrol negatif | | | | |
| DMSO | | | 0 | |

Berdasarkan Tabel 4.5 didapat bahwa ekstrak daun kelor (*M. oleifera*) menggunakan ekstraksi sonikasi memiliki hasil zona hambat yang lebih besar dibandingkan dengan ekstraksi maserasi terhadap bakteri *S. aureus*. Zona hambat yang diperoleh pada ekstrak daun kelor (*M. oleifera*) menggunakan ekstraksi sonikasi terhadap bakteri *S. aureus* terdapat pada Gambar 4.8.

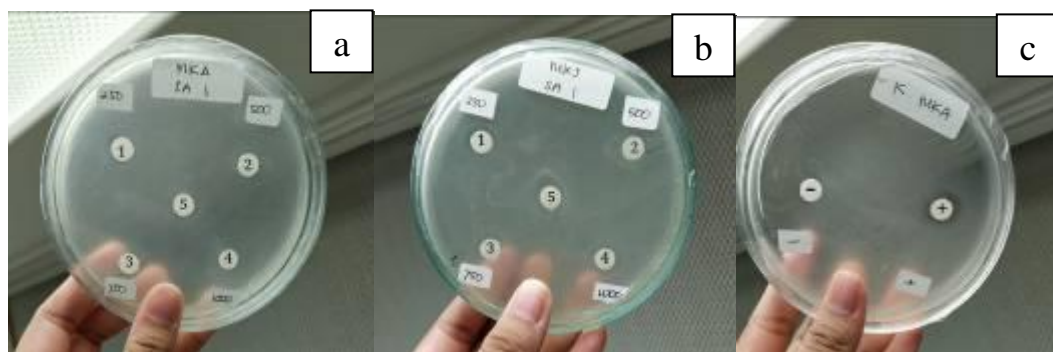


Gambar 4.8 (a) Zona Hambat Ekstrak Sonikasi Sampel Kering Angin terhadap *S. aureus* (b) Zona Hambat Ekstrak Sonikasi Sampel Kering Jemur terhadap *S. aureus* dan (c) Kontrol

Berdasarkan Gambar 4.8 pada bagian (a) didapat ekstrak daun kelor (*M. oleifera*) dengan sonikasi sampel kering angin mengalami peningkatan zona hambat dari konsentrasi terkecil 250 µg/ml sebesar 1,93 mm sampai konsentrasi terbesar 1250 µg/ml yaitu sebesar 4,85 mm. Begitu pula untuk ekstrak daun kelor (*M. oleifera*) dengan sonikasi sampel kering jamur pada bagian (b) juga mengalami peningkatan zona hambat dari konsentrasi 250 µg/ml sampai konsentrasi terbesar 1250 µg/ml yaitu sebesar 2,00 mm hingga 5,58 mm. Sehingga dapat disimpulkan bahwa aktivitas antibakteri ekstrak daun kelor (*M. oleifera*) menggunakan ekstraksi sonikasi dengan sampel kering angin terhadap bakteri *E. coli* termasuk dalam golongan lemah karena memiliki zona hambat <5 mm sedangkan ekstrak daun kelor (*M. oleifera*) menggunakan ekstraksi sonikasi dengan sampel kering jamur pada konsentrasi tertinggi termasuk dalam golongan sedang (5 - 10 mm).

Zona hambat yang dihasilkan dari ekstrak daun kelor (*M. oleifera*) dengan maserasi terhadap bakteri *S.aureus* terdapat pada Gambar 4.9. Berdasarkan Gambar 4.9 pada bagian (a) didapat ekstrak daun kelor (*M. oleifera*) dengan maserasi sampel kering angin mengalami peningkatan zona hambat dari

konsentrasi 250 $\mu\text{g/ml}$ sampai 1250 $\mu\text{g/ml}$ yaitu sebesar 1,47 mm hingga 4,30 mm. Begitu pula untuk ekstrak daun kelor (*M. oleifera*) dengan maserasi sampel kering jamur pada bagian (b) juga mengalami peningkatan zona hambat dari konsentrasi terkecil 250 $\mu\text{g/ml}$ sebesar 2,10 mm sampai konsentrasi terbesar 1250 $\mu\text{g/ml}$ yaitu sebesar 4,17 mm. Sehingga dapat disimpulkan bahwa aktivitas antibakteri ekstrak daun kelor (*M. oleifera*) menggunakan ekstraksi maserasi dengan sampel kering angin maupun kering jamur terhadap bakteri *S. aureus* termasuk golongan lemah karena memiliki zona hambat <5 mm.



Gambar 4.9 (a) Zona Hambat Ekstrak Maserasi Sampel Kering Angin terhadap *S. aureus* (b) Zona Hambat Ekstrak Maserasi Sampel Kering Jamur terhadap *S. aureus* dan (c) Kontrol

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Adline dan Devi (2014) uji aktivitas antibakteri ekstrak air daun kelor terhadap bakteri *E. coli* dengan konsentrasi 20, 50, 75, dan 100 $\mu\text{g/ml}$ menghasilkan zona hambat berturut-turut 0,4 mm, 0,5 mm, 0,5 mm, dan 0,6 mm. Pada penelitian yang dilakukan Peixoto, dkk., (2011) menguji aktivitas antibakteri ekstrak air dan etanol daun kelor terhadap bakteri *S. aureus* menggunakan konsentrasi disk 100, 200, 300, dan 400 μL , pada ekstrak etanol menghasilkan zona hambat berturut sebesar 17,3 mm, 18,5 mm, 21,3 mm, dan 22,3 mm. Sedangkan pada ekstrak air menghasilkan zona hambat berturut

sebesar 15,2 mm, 18,6 mm, 20,2 mm, dan 22,0 mm. Selain itu Amabye dan Tadesse (2016) juga melakukan uji aktivitas antibakteri ekstrak air dan etanol daun kelor terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Hasil zona hambat terhadap bakteri *E. coli* pada ekstrak air menghasilkan zona hambat sebesar 0 mm dan pada ekstrak etanol 8 mm. Sedangkan bakteri *S. aureus* pada ekstrak air menghasilkan zona hambat sebesar 5 mm dan pada ekstrak etanol sebesar 0 mm. Diameter zona hambat terhadap bakteri sangat dipengaruhi oleh konsentrasi ekstrak sehingga semakin besar zona hambat yang dihasilkan ekstrak maka kemampuan antibakterinya semakin besar (Kurniawati, 2015).

Kontrol positif yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri yaitu Doxycycline untuk bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Berdasarkan hasil pengujian rata-rata zona hambat untuk kontrol positif pada bakteri *E. coli* yaitu sebesar 10,86 mm sedangkan bakteri *S. aureus* sebesar 10,73 mm sehingga disimpulkan bahwa kontrol positif pada kedua bakteri termasuk dalam kategori kuat. Apabila dibandingkan dengan zona hambat ekstrak daun kelor (*M. oleifera*) dengan maserasi maupun sonikasi, diketahui bahwa hasil zona hambat ekstrak daun kelor (*M. oleifera*) lebih kecil dibandingkan zona hambat kontrol positif. Menurut Krinaningsih, dkk., (2005) Doxycycline mengikat ribosom pada sel bakteri sehingga mengganggu sintesis protein dan menyebabkan sintesis protein terhenti.

Uji aktivitas antibakteri juga digunakan kontrol negatif yaitu DMSO 100% untuk ekstrak maserasi maupun sonikasi sampel kering angin dan kering jamur. Menurut Mukhriani, dkk., (2015) DMSO atau Dimetil Sulfoksida merupakan salah satu pelarut sampel yang melarutkan hampir semua senyawa baik polar maupun non polar, larut dalam pelarut organik maupun air, selain itu DMSO tidak

memberikan daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri sehingga tidak mengganggu hasil pengamatan. Berdasarkan hasil uji antibakteri didapat kontrol negatif DMSO tidak memberikan zona hambat terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* sehingga zona hambat yang terbentuk pada uji antibakteri ekstrak daun kelor (*M. oleifera*) merupakan murni dari aktivitas senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak daun kelor (*M. oleifera*).

Kekuatan senyawa antibakteri ekstrak daun kelor (*M. oleifera*) berdasarkan zona hambat yang dihasilkan pada metode sonikasi lebih besar terbentuk zona hambat dibanding metode maserasi. Hal ini diduga pada ekstrak sonikasi lebih banyak mengandung senyawa aktif yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Menurut Sani, dkk., (2014) pada metode ekstraksi sonikasi menggunakan gelombang ultrasonik yang mengakibatkan kavitasi untuk membantu membuka membran sel sehingga memudahkan dalam mengekstrak senyawa. Ditambahkan oleh Vilku, dkk., (2007) ekstraksi sonikasi dapat meningkatkan rendemen komponen fenolik, antosianin, komponen aromatik, dan senyawa fungsional lain. Berdasarkan hasil penelitian uji aktivitas antibakteri ekstrak daun kelor (*M. oleifera*) diketahui bahwa ekstrak daun kelor dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus*.

Secara umum adanya kerja senyawa metabolit sekunder sebagai antibakteri yang dapat menyebabkan terjadinya perubahan yang mengarah pada kerusakan hingga terhambatnya sel bakteri (Heni dan Zaharah, 2015). Menurut Septiani dan Wijayanti (2017) senyawa antibakteri secara umum bekerja dengan cara merusak dinding sel, mengubah permeabilitas membran, mengganggu sintesis protein, dan menghambat kerja enzim. Masing-masing senyawa metabolit sekunder memiliki

peran yang berbeda sebagai senyawa antibakteri yaitu flavonoid dengan mendenaturasi protein dan merusak membran sel bakteri, alkaloid dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan, triterpenoid dengan cara merusak porin, dan saponin dengan cara merusak dinding sel bakteri (Heni dan Zaharah, 2015).

Senyawa flavonoid merupakan senyawa yang bersifat polar, sehingga lebih mudah menembus lapisan peptidoglikan yang bersifat polar seperti yang ada pada bakteri *E. coli*. Dalam penelitian Makita, dkk., (2016) *M. oleifera* ternyata mengandung flavonoid paling banyak dibandingkan *M. ovalifolia* yang hanya mengandung tiga dari total flavonoid. Salah satu golongan flavonol yaitu kuersetin terbukti dapat berperan sebagai antibakteri. Dalam penelitian Sudarwati dan Sumarni (2016) ekstrak daun kelor mengandung senyawa flavonoid khususnya kuersetin yang terbukti dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus*.

Flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa fenol, dimana senyawa fenol mempunyai sifat efektif dalam menghambat pertumbuhan virus, bakteri, dan jamur (Saputra dan Anggraini, 2016). Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri dibagi menjadi tiga yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membrane sel, dan menghambat metabolisme energi. Bagan mekanisme flavonoid sebagai antibakteri digambarkan pada Gambar 2.7. Flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom, dan lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri. Selain itu flavonoid menghambat fungsi membran sel dimana flavonoid akan membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut

sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler. Flavonoid juga dapat menghambat metabolisme energi dengan cara menghambat penggunaan oksigen oleh bakteri. Flavonoid menghambat pada sitikrom C reduktase sehingga pembentukan metabolisme terhambat (Bontjura, dkk., 2015).

Alkaloid mengandung nitrogen sebagai bagian dari sistem sikliknya serta mengandung substituen yang bervariasi seperti gugus amina, amida, fenol, dan metoksi (Simaremare, 2014). Mekanisme kerja senyawa alkaloid sebagai antibakteri digambarkan pada Gambar 2.9 yaitu diduga dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel (Haryati, dkk., 2015). Alkaloid menghambat sintesis dinding sel yang dapat menyebabkan lisis pada sel sehingga sel akan mengalami kematian (Amalia, dkk., 2014).

Saponin memiliki bagian polar dan non polar dimana glikosil yang berfungsi sebagai gugus polar dan gugus steroid sebagai gugus nonpolar (Putri, dkk., 2013). Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri yaitu dengan menghambat fungsi membran sel mikroba. Saponin membentuk senyawa kompleks dengan membran sel melalui ikatan hidrogen sehingga menghancurkan sifat permeabilitas dinding sel dan menyebabkan pelepasan isi sel dan mengakibatkan kematian sel (Haryati, dkk., 2015). Senyawa saponin berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan, kemudian akan mengikat membran sitoplasma dan mengganggu serta mengurangi kestabilan sitoplasma. Sehingga sitoplasma mengalami kebocoran dan menyebabkan kematian sel (Pangestuti, dkk., 2017).

Triterpenoid merupakan salah satu senyawa yang memiliki potensi sebagai antibakteri. Mekanisme triterpenoid sebagai antibakteri digambarkan pada Gambar 2.13. Mekanisme antibakteri dari senyawa triterpenoid yaitu bereaksi dengan protein transmembran pada membran luar dinding sel bakteri, kemudian membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga menyebabkan rusaknya porin. Porin merupakan pintu keluar masuknya senyawa apabila rusak akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri yang menyebabkan sel bakteri kekurangan nutrisi sehingga pertumbuhannya terhambat atau mati (Amalia, dkk., 2014). Menurut Saputra dan Anggraini (2016) triterpenoid merusak fraksi lipid membran sitoplasma sehingga mengganggu proses terbentuknya membran atau dinding sel. Akibatnya membran atau dinding sel terbentuk tidak sempurna atau bahkan tidak dapat terbentuk.

Hal tersebut dapat dimanfaatkan untuk membantu mengatasi penyakit yang disebabkan oleh bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Sebagaimana disebutkan dalam hadits shahih riwayat Imam Bukhari, bahwa Rasulullah SAW bersabda :

مَا أُنْزِلَ اللَّهُ دَاءً إِلَّا أُنْزِلَ لَهُ شِفَاءٌ

Artinya : “Tidaklah Allah menurunkan penyakit kecuali Dia juga menurunkan penawarnya.” (HR Bukhari).

Hadist tersebut menjelaskan bahwa Allah SWT menurunkan berbagai penyakit pada manusia pasti ada obat untuk menyembuhkan. Namun hal ini dapat ditemukan oleh orang yang berfikir, memahami, dan mau meneliti untuk mencari solusi dalam mengatasi penyakit tersebut. Akan tetapi ada faktor lain yang paling

menentukan kesembuhan selain dengan obat yaitu kehendak Allah SWT, sebagaimana firman-Nya dalam Surat Asy-Syu'ara (80) :

وَإِذَا مَرَضْتُ فَهُوَ يَشْفِينِ

Artinya : “Dan apabila aku sakit, Dialah yang menyembuhkan aku.” (QS. Asy-Syu'ara : 80)

Ayat tersebut bermakna jika manusia sakit, tidak ada seorang pun yang dapat menyembuhkan selain kuasa Allah SWT. Ayat tersebut juga menegaskan bahwa hanya Allah SWT yang dapat menyembuhkan berbagai macam penyakit. Obat atau berbagai alternatif lain yang digunakan dan dilakukan oleh manusia untuk menyembuhkan penyakit merupakan bentuk upaya atau ikhtiar yang dilakukan untuk mempermudah manusia dalam mendapat kesembuhan.

4.5.1 Analisis Data

Analisis data uji aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan analisis ragam dua arah atau *Two Way Anova* dengan taraf kepercayaan 5% . Ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh variasi konsentrasi dan jenis ekstrak daun kelor (*M. oleifera*). Analisis terdiri dari dua variabel bebas yaitu konsentrasi dan jenis ekstrak serta variabel terikat yaitu zona hambat bakteri. Hasil dari analisis dua arah atau *Two Way Anova* pengaruh variasi konsentrasi dan jenis ekstrak daun kelor (*M. oleifera*) menunjukkan hasil yang signifikan.

Hasil uji F variasi konsentrasi pada bakteri *E. coli* didapat nilai $F_{hitung} > F_{tabel}$ ($217,286 > 2,87$) dengan probabilitas (sig.) sebesar 0,000 lebih kecil dari nilai alpha (0,05), sedangkan variasi jenis ekstrak pada bakteri *E. coli* didapat nilai

$F_{hitung} > F_{tabel}$ ($7,578 > 3,09$) dengan probabilitas (sig.) sebesar 0,001 lebih kecil dari nilai alpha (0,05). Kemudian hasil uji F variasi konsentrasi pada bakteri *S. aureus* didapat nilai $F_{hitung} > F_{tabel}$ ($82,137 > 2,87$) dengan probabilitas (sig.) sebesar 0,000 lebih kecil dari nilai alpha (0,05), sedangkan variasi jenis ekstrak pada bakteri *S. aureus* didapat nilai $F_{hitung} > F_{tabel}$ ($7,919 > 3,09$) dengan probabilitas (sig.) sebesar 0,001 lebih kecil dari nilai alpha (0,05).

Berdasarkan hasil uji F, uji untuk perlakuan variasi konsentrasi dan jenis ekstrak terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* didapat nilai $F_{hitung} > F_{tabel}$ dan angka signifikan (sig.) $< P.value$ (alpha). Disimpulkan terdapat minimal satu pengaruh variasi konsentrasi dan jenis ekstrak daun kelor (*M. oleifera*) dalam uji aktivitas antibakteri pada bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Pada data hasil terdapat perbedaan rata-rata yang belum diketahui secara pasti dimana letak perbedaan tersebut, sehingga perlu diketahui dengan menggunakan uji lanjut BNT (Beda Nyata Terkecil). Hasil uji BNT variasi konsentrasi terhadap zona hambat bakteri *E. coli* dan *S. aureus* ditunjukkan pada Tabel 4.6

Tabel 4.6 Hasil Uji BNT Variasi Konsentrasi terhadap Zona Hambat

| Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$) | Notasi | |
|----------------------------------|----------------|------------------|
| | <i>E. coli</i> | <i>S. aureus</i> |
| 250 | A | A |
| 500 | B | B |
| 750 | C | C |
| 1000 | D | D |
| 1250 | E | E |

Berdasarkan Tabel 4.6 terdapat notasi huruf, dimana notasi huruf yang berbeda menunjukkan adanya beda nyata antara rata-rata zona hambat terhadap perlakuan variasi konsentrasi. Variasi konsentrasi ekstrak daun kelor (*M. oleifera*)

menunjukkan adanya pengaruh yang signifikan terhadap rata-rata zona hambat bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Pada semua variasi konsentrasi memberikan pengaruh beda nyata antara satu dengan yang lain. Sehingga disimpulkan bahwa pemberian variasi konsentrasi ekstrak daun kelor (*M. oleifera*) menghasilkan zona hambat yang berbeda pada pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Sedangkan hasil uji BNT variasi jenis ekstrak terhadap zona hambat bakteri *E. coli* dan *S. aureus* ditunjukkan pada Tabel 4.7

Tabel 4.7 Hasil Uji BNT Variasi Jenis Ekstrak Terhadap Zona Hambat

| Variasi Jenis Ekstrak | Notasi | |
|-----------------------|----------------|------------------|
| | <i>E. coli</i> | <i>S. aureus</i> |
| Sonikasi Kering Angin | B | AB |
| Sonikasi Kering Jemur | B | B |
| Maserasi Kering Angin | A | A |
| Maserasi Kering Jemur | A | A |

Berdasarkan Tabel 4.7 terdapat notasi huruf dimana notasi huruf yang berbeda menunjukkan adanya beda nyata antara rata-rata zona hambat terhadap perlakuan variasi jenis ekstrak, sedangkan notasi huruf yang sama menunjukkan tidak adanya beda nyata antara rata-rata zona hambat terhadap perlakuan variasi jenis ekstrak. Disimpulkan bahwa rata-rata zona hambat bakteri *E. coli* terhadap perlakuan ekstrak maserasi sampel kering angin dan kering jemur keduanya berbeda nyata dengan ekstrak sonikasi sampel kering angin dan kering jemur. Sedangkan rata-rata zona hambat bakteri *S. aureus* terhadap perlakuan ekstrak maserasi sampel kering angin dan kering jemur tidak berbeda nyata dengan perlakuan ekstrak sonikasi sampel kering angin namun berbeda nyata dengan perlakuan ekstrak sonikasi sampel kering jemur.

4.6 Uji Toksisitas Ekstrak Terbaik Uji Antibakteri

4.6.1 Penetasan Telur Larva Udang *Artemia salina*

Proses penetasan larva udang *Artemia salina* melalui 3 tahapan yaitu tahap hidrasi, tahap pecah cangkang, dan tahap payung. Tahap hidrasi merupakan terjadinya penyerapan air oleh telur dalam bentuk kering yang kemudian menjadi bulat dan aktif bermetabolisme, kemudian tahap pecahnya cangkang dan tahap payung dimana pengeluaran sesaat sebelum naupli (larva) keluar dari cangkang (Azah, 2018).

4.6.2 Uji Toksisitas

Uji toksisitas dilakukan dengan menggunakan ekstrak terbaik dari hasil uji antibakteri yaitu ekstrak sampel kering jamur daun kelor (*M. oleifera*) dengan metode sonikasi. Kontrol yang digunakan yaitu kontrol pelarut yang berisi pelarut air, kontrol DMSO yang berisi cairan DMSO, dan kontrol tanpa ekstrak yang merupakan perlakuan dengan konsentrasi 0 ppm.

Uji toksisitas untuk memastikan ekstrak larut dalam air laut yang berperan sebagai media uji yaitu dengan menambahkan DMSO. Pada uji toksisitas DMSO berperan sebagai surfaktan yang memiliki ujung hidrofilik dan hidrofobik sehingga membantu kelarutan senyawa uji di dalam air laut agar terdistribusi secara merata (Aisyah, dkk., 2018). Pada uji toksisitas ini digunakan variasi konsentrasi ekstrak yaitu 25, 50, 100, 200, dan 400 ppm. Tingkat toksisitas suatu senyawa dihitung menggunakan LC_{50} . Tabel 4.8 menunjukkan hasil perhitungan nilai LC_{50} pada ekstrak daun kelor (*M. oleifera*) sampel kering jamur metode sonikasi.

Tabel 4.8 Nilai LC₅₀ Uji Toksisitas Ekstrak Air Daun Kelor (*M. oleifera*)

| Ekstrak | Nilai LC ₅₀ |
|------------------------------|------------------------|
| Sonikasi sampel kering jamur | 183,115 ppm |

Berdasarkan Tabel 4.8 dihasilkan nilai LC₅₀ ekstrak daun kelor (*M. oleifera*) sampel kering jamur menggunakan ekstraksi sonikasi sebesar 183,115 ppm. Hal ini menunjukkan ekstrak daun kelor (*M. oleifera*) sampel kering jamur metode sonikasi tersebut berpotensi sebagai antibakteri atau antimikroba karena berada pada range 30 – 200 ppm. Ditambahkan oleh Dhone, dkk., (2018) senyawa dengan nilai LC₅₀ 30 – 200 ppm berpotensi sebagai antibakteri. Pada penelitian yang dilakukan Anwar, dkk., (2014) uji toksisitas ekstrak air daun kelor dengan konsentrasi yang sama menggunakan ekstraksi maserasi menghasilkan nilai LC₅₀ sebesar 265,977 ppm. Perbedaan nilai LC₅₀ kemungkinan disebabkan perbedaan keadaan geografis sampel daun kelor dan juga metode ekstraksi yang digunakan.

Hasil uji toksisitas ekstrak daun kelor (*M. oleifera*) sampel kering jamur menggunakan ekstraksi sonikasi menunjukkan pada konsentrasi 183,115 ppm dapat membunuh 50% hewan uji. Sebagaimana telah dijelaskan Allah SWT dalam Surat Al-Qamar (49) :

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ

Artinya : “Sesungguhnya Kami menciptakan segala sesuatu menurut ukuran.”
(QS. Al-Qamar : 49).

Sebagaimana yang telah dijelaskan ayat diatas, kata *qadar* berarti mengukur atau memberi kadar. Maksud dari ayat diatas yaitu Allah SWT menciptakan segala

sesuatu dengan memberi kadar, batas, dan ukuran tertentu pada kemampuan maksimalnya. Begitu juga pemanfaatan ekstrak daun kelor (*M. oleifera*) pada penelitian ini yang selanjutnya dapat dimanfaatkan dalam bidang pengobatan seperti antibakteri dengan kadar tertentu dapat membunuh hewan uji dengan jumlah tertentu.

Nilai toksisitas suatu ekstrak ditandai dengan kematian larva udang *Artemia salina*. Hal Ini menunjukkan bahwa adanya golongan senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak yang masuk ke dalam tubuh larva udang melalui sistem pencernaan. Berdasarkan hasil uji fitokimia ekstrak daun kelor dengan ekstraksi sonikasi sampel kering jemur mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder diantaranya flavonoid, alkaloid, triterpenoid, dan saponin. Mekanisme kerja dari senyawa-senyawa tersebut dengan bertindak sebagai racun perut. Senyawa ini masuk ke dalam tubuh larva udang dan mengganggu sistem pencernaannya dimana akan menghambat reseptor perasa pada daerah mulut larva. Hal ini mengakibatkan larva gagal mendapatkan stimulus rasa sehingga tidak mampu mengenali makanannya dan akibatnya larva mati kelaparan (Vitalia, dkk., 2016).

Kandungan senyawa flavonoid dalam suatu sampel mengandung glikosida yang berperan dalam aktivitas sitotoksik. Senyawa flavonoid diduga menyumbang keaktifan dalam menghambat pertumbuhan larva *Artemia salina* dengan cara merusak struktur dinding sel menghambat fungsi membrane sel, menghambat kerja enzim, dan menghambat sintesis protein dan asam nukleat (Andrianto, 2017). Ditambahkan oleh Vitalia, dkk., (2016) senyawa saponin mengandung glikosida dalam tanaman yang sifatnya menyerupai sabun dan dapat larut dalam air yang dapat menurunkan aktivitas enzim pencernaan dan penyerapan makanan.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Hasil uji aktivitas antibakteri daun kelor (*M. oleifera*) didapat pada bakteri *E. coli* ekstrak yang menghambat pertumbuhan bakteri paling tinggi yaitu ekstrak sonikasi sampel kering jamur dengan zona hambat sebesar 5,75 mm. Begitu juga pada bakteri *S. aureus* ekstrak yang menghambat pertumbuhan bakteri paling tinggi yaitu ekstrak sonikasi sampel kering jamur dengan zona hambat sebesar 5,40 mm.
2. Uji toksisitas ekstrak terbaik daun kelor (*M. oleifera*) dari uji antibakteri yaitu menggunakan ekstrak sonikasi sampel kering jamur dan didapat nilai LC_{50} sebesar 183,115 ppm yang menunjukkan ekstrak berpotensi sebagai antibakteri.

5.2 Saran

1. Diperlukan pemekatan ekstrak yang digunakan sampai kering tanpa adanya pelarut yang menempel pada sampel.
2. Diperlukan pemisahan senyawa aktif yang lebih spesifik menggunakan bantuan instrumen seperti GC-MS dan FTIR agar dapat mengetahui struktur senyawa aktif dengan pasti dalam daun kelor.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdallah, E. M. 2016. Antibacterial Properties of Leaf Extracts of *Moringa Oleifera* Lam. Growing in Sudan. *Journal of Advances in Medical and Pharmaceutical Sciences*, 1–5.
- Adiwibowo, M. T., Herayati, Karen Erlangga, dan Ayu Fitria. 2020. Pengaruh Metode Dan Waktu Ekstraksi Terhadap Kualitas Dan Kuantitas Saponin Dalam Ekstrak Belimbing Wuluh Untuk Aplikasi Deterjen, *Jurnal Integrasi Proses*. 9 (2): 44–50.
- Agustie, A. W. D., dan Ratno Agung Samsumaharto. 2013. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Maserasi Daun Kelor (*Moringa Oleifera*, Lamk) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Biomedika* 6 (2): 14–19.
- Aisyah, S., Adel Zamri, dan Hilwan Yuda Teruna. 2018. Sintesis dan Uji Toksisitas Senyawa Analog Kurkumin 3,5 Bis ((E)-Metoksi Benziliden)-1-(2-Etil Asetat)-Piperidin-4-on. *Photon: Jurnal Sain Dan Kesehatan* 9 (1): 159–163.
- Amabye1, T. G., dan Firehiwot Mekonen Tadesse. 2014. Phytochemical and Antibacterial Activity of *Moringa Oleifera* Available in the Market of Mekelle. *J Anal Pharm Res* 2(1): 00011.
- Amalia, R., Nurul Marfu'ah, dan Surya Amal. 2018. Aktivitas Antibakteri Kayu Siwak (*Salvadora Persica*) Fraksi Eter Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara in Vitro. *Pharmaceutical Journal of Islamic Pharmacy* 2 (1): 16–21.
- Amalia, S., Sri Wahdaningsih, dan Eka Kartika Untari. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi N-Heksan Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus Polyrhizus Britton & Rose*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* ATCC 25923. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia* 1 (2).
- Amelinda, E., I Wayan Rai Widarta, dan Luh Putu Trisna Darmayanti. 2018. Pengaruh Waktu Maserasi Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorriza* Roxb.). *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan (ITEPA)* 7 (4): 165–174.
- Amjad, M. S., Huma Qureshi, Muhammad Arshad, Sunbal Khalil Chaudhari, dan Maria Masood. 2015. The Incredible Queen of Green: Nutritive Value and Therapeutic Potential of *Moringa Oleifera* Lam. *J Coast Life Med* 3 (9): 744–751.
- Anastasia, N. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Alfa Mangostin Kulit Buah Manggis (*Garcinia Mangostana* L.) Terhadap *Propionibacterium acne* dan *Staphylococcus aureus* Multiresisten. *Thesis*. K100060121.

- Andriani, M., I Dewa Gde Mayun Permana, dan I Wayan Rai Widarta. Pengaruh Suhu Dan Waktu Ekstraksi Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Terhadap Aktivitas Antioksidan Dengan Metode *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*. Vol 8 No.3, 330-340.
- Andrianto, Y. 2017. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kasar Daun *Bruguiera gymnorrhiza* dengan Pelarut dan Lama Ekstraksi yang Berbeda Menggunakan Metode Sonikasi. *Skripsi*. Universitas Brawijaya.
- Anwar, F., Sajid Latif, Muhammad Ashraf, dan Anwarul Hassan Gilani. 2007. *Moringa Oleifera: A Food Plant with Multiple Medicinal Uses. Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives* 21 (1): 17–25.
- Aqiila, G. R., Irham Taufiqurrahman, dan Erida Wydiamala. 2017. Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Ramania (*Bouea Macrophylla Griffith*) Terhadap Mortalitas Larva *Artemia salina* Leach. *Dentino* 2 (2): 170–176.
- Arifin, B., dan Sanusi Ibrahim. 2018. Struktur, Bioaktivitas Dan Antioksidan Flavonoid. *Jurnal Zarah* 6 (1): 21–29.
- Asmediana, A. 2017. Perubahan Komponen Rasa Gurih Dalam Cabuk yang Mengalami Penyimpanan dan Pemanasan Berulang. *Agroindustrial Technology Journal* 1 (1): 1–9.
- Astarina, N. W. G., K.W. Astuti, dan N.K. Warditiani. 2013. Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Rimpang Bangle (*Zingiber Purpureum* Roxb.). *Jurnal Farmasi Udayana*.
- Azah, S. N. 2019. Uji Toksisitas dan Identifikasi Isolat Steroid Hasil KLTP Ekstrak n-Heksana dan Petroleum Eter *Hydrilla verticillata* Menggunakan UV-Vis dan LC-MS/MS. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Biharee, A., Aditi Sharma, Amit Kumar, dan Vikas Jaitak. 2020. Antimicrobial Flavonoids as a Potential Substitute for Overcoming Antimicrobial Resistance. *Fitoterapia* 146 (October): 104720.
- Bintari, Y. R., dan Helmin Elyani. 2017. Ekstraksi Senyawa Bioaktif dari *Cladophora* Sp. dengan Metode Solvent Free Microwave Assisted Extraction (SFMAE). *JIMR-Journal of Islamic Medicine Research* 1 (1).
- Bintoro, A., Agus Malik Ibrahim, dan Boima Situmeang. 2017. Analisis Dan Identifikasi Senyawa Saponin Dari Daun Bidara (*Zhizipus mauritania* L.). *Jurnal Itekima* 2 (1): 84–94.

- Bontjura, S., Olivia Amelia Waworuntu, dan Krista Veronica Siagian. 2015. Uji Efek Antibakteri Ekstrak Daun Leilem (*Clerodendrum minahassae* L.) Terhadap Bakteri *Streptococcus Mutans*. *Pharmacon* 4 (4).
- Bota, W., Martanto Martosupono, dan Ferdy S. Rondonuwu. 2015. Potensi Senyawa Minyak Sereh Wangi (*Citronella* Oil) Dari Tumbuhan *Cymbopogon nardus* L. Sebagai Agen Antibakteri. *Prosiding Semnastek*.
- Chukwuebuka, E. 2015. *Moringa Oleifera* the Mother's Best Friend. *International Journal of Nutrition and Food Sciences* 4 (6): 624–630.
- Dewi, P. J. N., Amna Hartiati, dan Sri Mulyani. 2016. Pengaruh Umur Panen Dan Tingkat Maserasi Terhadap Kandungan Kurkumin Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kunyit (*Curcuma domestica* Val.). *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri* 4 (3): 105–115.
- Dhone, B. S., Theo da Cunha, dan Dodi Darmakusuma. 2018. Uji Toksisitas Ekstrak Karang Lunak *Sarcophyton sp* Asal Timor Terhadap Larva *Artemia salina* Leach. *Chemistry Notes* 1 (1): 32–40.
- Dima, L. R. H., Fatimawali, Widya A.L. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kelor (*Moringa Oleifera* L.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Pharmacon* 5 (2).
- Dzieciol, M. 2020. Influence of Extraction Technique on Yield and Antioxidant Activity of Extracts from *Moringa oleifera* Leaf. *Polish Journal of Chemical Technology* 22 (4): 31-35.
- Ergina, Siti Nuryanti, dan Indarini Dwi Pursitasari. 2014. Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder pada Daun Palado (*Agave angustifolia*) yang Diekstraksi dengan Pelarut Air dan Etanol. *Jurnal Akademika Kimia* 3 (3): 165–172.
- Fadli, Suhaimi, dan Muhammad Idris. 2019. Uji Toksisitas Akut Estrak Etanol Daun Salam (*Syzygium Polyanthum* (Wight) Walp.) dengan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*).” *Medical Sains* 4 (1): 35–42.
- Fatiqin, A., Riri Novita, dan Ike Apriani. 2019. Pengujian *Salmonella* dengan Menggunakan Media SSA dan *E.coli* Menggunakan Media Emba Pada Bahan Pangan. *Indobiosains* 1 (1).
- Fessenden, R. J., dan Joan S. Fessenden. 1986. *Kimia Organik Edisi Ketiga*. Terjemahan Aloysius Hadyana Pudjaatmaka. Jakarta: Erlangga
- Gopalakrishnan, L., Kruthi Doriya, dan Devarai Santhosh Kumar. 2016. *Moringa Oleifera*: A Review on Nutritive Importance and Its Medicinal Application. *Food Science and Human Wellness* 5 (2): 49–56.

- Halimah, H., Dwi Margi Suci, dan Indah Wijayanti. 2019. Studi Potensi Penggunaan Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) Sebagai Bahan Antibakteri *Escherichia coli* Dan *Salmonella typhimurium*.” *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia* 24 (1): 58–64.
- Handayani, H., Sriherfyna, F.H., dan Yuniarta. 2016. Ekstraksi Antioksidan Daun Sirsak Merode Ultrasonic Bath (Kajian Bahan: Pelarut dan Lama ekstraksi). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 4(1).
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Terjemahan Kosasih Padma Winata dan Iwang Soediro. Bandung: ITB
- Hardiyanthi, F. 2015. Pemanfaatan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*) dalam Sediaan Hand and Body Cream. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta
- Haryati, N. A., Chairul Saleh, dan Erwin. 2015. Uji Toksisitas dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Merah Tanaman Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium Walp.*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Kimia Mulawarman* 13 (1).
- Hasyim, M., dan Hapzah. 2019. Daya Terima Kue Baruas Dengan Penambahan Tepung Daun Kelor Tua. *Jurnal Kesehatan Manarang*. 5(2): 132-137.
- Heni, S. A., dan Titin Anita Zaharah. 2015. Efektivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Belimbing Hutan (*Baccaurea angulata* Merr.) Terhadap *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*. *Jurnal Kimia Khatulistiwa* 4 (1).
- Hermi, Rocmawati, dan Selviana. 2018. Gambaran Prinsip Higiene Sanitasi dan Fasilitas Sanitasi pada Jasa Catering Sekolah Dasar di Kota Pontianak. *Jurnal Kesmas (Kesehatan Masyarakat) Khatulistiwa* 5 (4): 140–149.
- Herslambang, R. A., Dina Rahmawanty, dan Mia Fitriana. 2015. Aktivitas Sediaan Gel Kuersetin terhadap *Staphylococcus epidermidis*. *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy)*: 1 (1): 59–64.
- Hidayah, N. 2016. Pemanfaatan Senyawa Metabolit Sekunder Tanaman (Tanin Dan Saponin) Dalam Mengurangi Emisi Metan Ternak Ruminansia. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia* 11 (2): 89–98.
- Hidayat, S., dan Rodame M. Napitupulu. 2015. *Kitab Tumbuhan Obat*. Yogyakarta: AGRIFLO.
- Ikalinus, R., Sri Kayati Widyastuti, dan Ni Luh Eka Setiasih. 2015. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera*). *Indonesia Medicus Veterinus* 4 (1): 71–79.

- Ilanko, P., Pauline Ann McDonnell, Sandy van Vuuren, dan Ian Edwin Cock. 2019. Interactive Antibacterial Profile of *Moringa Oleifera* Lam. Extracts and Conventional Antibiotics against Bacterial Triggers of Some Autoimmune Inflammatory Diseases. *South African Journal of Botany* 124: 420–435.
- Januarti, I. B., Arifin Santoso, dan Akhdan Sultrawan Razak. 2017. Ekstraksi Senyawa Flavonoid Daun Jati (*Tectona Grandis L.*) dengan Metode Ultrasonik (Kajian Rasio Bahan : Pelarut dan Lama Ekstraksi). *Media Farmasi Indonesia* 12 (2).
- Jayanegara, A., dan A. Sofyan. 2008. Penentuan Aktivitas Biologis Tanin Beberapa Hijauan Secara in Vitro Menggunakan 'hohenheim Gas Test' dengan Polietilen Glikol Sebagai Determinan. *Media Peternakan* 31 (1).
- Jos, B., Bambang Pramudono, dan Aprianto Aprianto. 2011. Ekstraksi Oleoresin dari Kayu Manis Berbantu Ultrasonik dengan Menggunakan Pelarut Alkohol. *Reaktor*: 13 (4): 231–36.
- Juliantina, F., Dewa Ayu Citra, Bunga Nirwani, Titis Nurmasitoh, dan Endrawati Tri Bowo. 2009. Manfaat Sirih Merah (*Piper crocatum*) Sebagai Agen Anti Bakterial Terhadap Bakteri Gram Positif Dan Bakteri Gram Negatif. *Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan Indonesia* no. 1: 12–20.
- Kandou, F. E. F., dan Dingse Pandiangan. 2018. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Tumbuhan Paku Diantum *Capillus-Veneris* Dan *Asplenium Nidus* Terhadap Bakteri Gram Negatif *Escherichia coli* Dengan Metode Difusi Agar. *Jurnal MIPA* 7 (1): 25–28.
- Kholif, A. E., G. A. Gouda, U. Y. Anele, dan M. L. Galyean. 2018. Extract of *Moringa Oleifera* Leaves Improves Feed Utilization of Lactating Nubian Goats. *Small Ruminant Research* 158: 69–75.
- Krisnadi, A. D. 2012. Kelor Super Nutrisi. Pusat Informasi dan Pengembangan Tanaman Kelor Indonesia. Lembaga Swadaya Masyarakat Media Peduli Lingkungan (LSM- MAPELING). Kunduran, Yogyakarta.
- Krisnaningsih, M. M. F., Widya Asmara, dan M. Haryadi W. 2005. Uji Sensitivitas Isolat *Escherichia coli* Patogen Pada Ayam Terhadap Beberapa Jenis Antibiotik. *J. Sain Vet.* Vol 1.
- Kumala, L. D. 2007. Kajian Ekstrak Umbi Gadung (*Dioscorea hispida*), Rerak (*Sapindus rarak*) dan Biji Sirsak (*Annona muricata L.*) sebagai Bahan Pengawet Alami Kayu. *Skripsi*. Bandung: IPB.
- Kurniawati, E. 2015. Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Tunas bambu Apus Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Jurnal Wiyata*. 2 (2).

- Luliana, S., Nera Umilia Purwanti, dan Kris Natalia Manihuruk. 2016. Pengaruh Cara Pengeringan Simplisia Daun Senggani (*Melastoma malabathricum* L.) Terhadap Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH (2, 2-Difenil-1-Pikrilhidrazil). *Pharmaceutical Sciences & Research* 3 (3): 2.
- Mahizan, N. A., Shun-Kai Yang, Chew-Li Moo, Adelene Ai-Lian Song, Chou-Min Chong, Chun-Wie Chong, Aisha Abushelaibi, Swee-Hua Erin Lim, dan Kok-Song Lai. 2019. Terpene Derivatives as a Potential Agent against Antimicrobial Resistance (AMR) Pathogens. *Molecules* 24 (14): 2631.
- Maizuwo, A. I., Aminu Sharif Hassan, Hassanah Momoh, dan Jabir Abdullahi Muhammad. 2017. Phytochemical Constituents, Biological Activities, Therapeutic Potentials and Nutritional Values of *Moringa Oleifera* (Zogale): A Review. *Journal of Drug Design and Medicinal Chemistry* 3 (4): 60.
- Makita, C., Luke Chimuka, Paul Steenkamp, Ewa Cukrowska, dan Edwin Madala. 2016. Comparative Analyses of Flavonoid Content in *Moringa Oleifera* and *Moringa Ovalifolia* with the Aid of UHPLC-QTOF-MS Fingerprinting. *South African Journal of Botany* 105: 116–22.
- Manalu, L. P., dan Himawan Adinegoro. 2016. Kondisi Proses Pengeringan Untuk Menghasilkan Simplisia Temuputih Standar. *Jurnal Standardisasi* 18 (1): 63–70.
- Manoi, F. 2015. Pengaruh Cara Pengeringan Terhadap Mutu Simplisia Sambiloto. *Buletin Penelitian Tanaman Rempah Dan Obat* 17 (1): 1–5.
- Marliana, E., dan Chairul Saleh. 2011. Uji Fitokimia Dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Etanol, Fraksi n-Heksana, Etil Asetat Dan Metanol Dari Buah Labu Air (*Lagenari siceraria* (Molina) Standl). *Jurnal Kimia Mulawarman* 8 (2).
- Marliana, S. D., Venty Suryanti, dan Suyono. 2005. The Phytochemical Screenings and Thin Layer Chromatography Analysis of Chemical Compounds in Ethanol Extract of Labu Siam Fruit (*Sechium edule* Jacq. Swartz.). *Biofarmasi Journal of Natural Product Biochemistry* 3 (1): 26–31.
- Mukhriani, Andi Armisman Edy Paturusi, dan Azwar Nashir As. 2015. Fraksinasi Senyawa Antimikroba Daun Anak Dara (*Croton oblongus* Burm f.). *JK FIK UINAM* 3 (4).
- Munfaati, P. N. 2015. Aktivitas Senyawa Antibakteri Ekstrak Herba Meniran (*Phyllanthus niruri*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Shigella dysenteriae* Secara In Vitro. *LenteraBio* 4 (1).
- Nugrahani, R., Yayuk Andayani, dan Aliefman Hakim. 2016. Skrining Fitokimia Dari Ekstrak Buah Buncis (*Phaseolus vulgaris* L) Dalam Sediaan Serbuk. *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA (JPPIPA)* 2 (1).

- Oroh, S. B., Febby E.F. Kandou, Johanis Pelealu, dan Dingse Pandiangan. 2015. Uji Daya Hambat Ekstrak Metanol Selaginella Delicatula Dan Diplazium Dilatatum Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Ilmiah Sains* 15 (1): 52–58.
- Pandey, A., R. D. Pandey, P. Tripathi, P. P. Gupta, J. Haider, S. Bhatt, dan A. V. Singh. 2012. *Moringa Oleifera* Lam. Sahijan)-A Plant with a Plethora of Diverse Therapeutic Benefits: An Updated Retrospection. *Medicinal and Aromatic Plants* 1 (1): 1–8.
- Pawaskar, S. M., dan Sasangan KC. 2017. Preliminary Phytochemical and Invitro-Antioxidant And Analysis of *Moringa Oleifera* LAM. Leaf Extract. *International Journal of Recent Advances in Multidisciplinary Research* Vol. 04, Issue 08, pp.2733-2740.
- Peixoto, J. R. O., Giselle Cristina Silva, Renata Albuquerque Costa, Gustavo Hitzschky Fernandes Vieira, Antonio Adaauto Fonteles Filho, dan Regine Helena Silva dos Fernandes Vieira. 2011. In Vitro Antibacterial Effect of Aqueous and Ethanolic Moringa Leaf Extracts. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* 4 (3): 201–4.
- Petrina, R., Andi.H.A., dan Harlia. 2017. Uji Aktivitas Antioksidan Dan Toksisitas Kulit Biji Pinang Sirih (*Areca catechu L.*). *JKK* Vol 6(2): 70-77
- Prayoga, E. 2013. Perbandingan Efek Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper Betle L.*) Dengan Metode Difusi Disk Dan Sumuran Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah
- Purwakusumah, E. D., Sadwika Najmi Kautsari, dan Waras Nurcholis. 2013. Effects of Extraction Methods on Curcuminoids Contents and Antioxidant Activity of Curcuma Longa Linn. *Seminar Nasional Aspek Budaya, Kebijakan dan Filosofi Sains Jamu*.
- Puspitasari, D. 2018. Pengaruh Metode Perebusan Terhadap Uji Fitokimia Daun Mangrove *Excoecaria agallocha*. *Jurnal Penelitian Pendidikan Sosial Humaniora* 3 (2): 424–28.
- Putra, I. W. D. P., Anak Agung Gede Oka Dharmayudha, dan Luh Made Sudimartini. 2016. Identifikasi Senyawa Kimia Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa Oleifera L*) Di Bali. *Indonesia Medicus Veterinus* 5 (5): 464–473.
- Putri, W. S., Warditiani, N. K., dan Larasanty, L. P. F. 2013. Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana L.*). *Jurnal Farmasi Udayana* 2 (4).
- Rachmawati, S. R., dan Junie Suriawati. 2019. Characterization of Moringa (*Moringa Oleifera* Lam.) Leaf Water Extracts By Chemical and

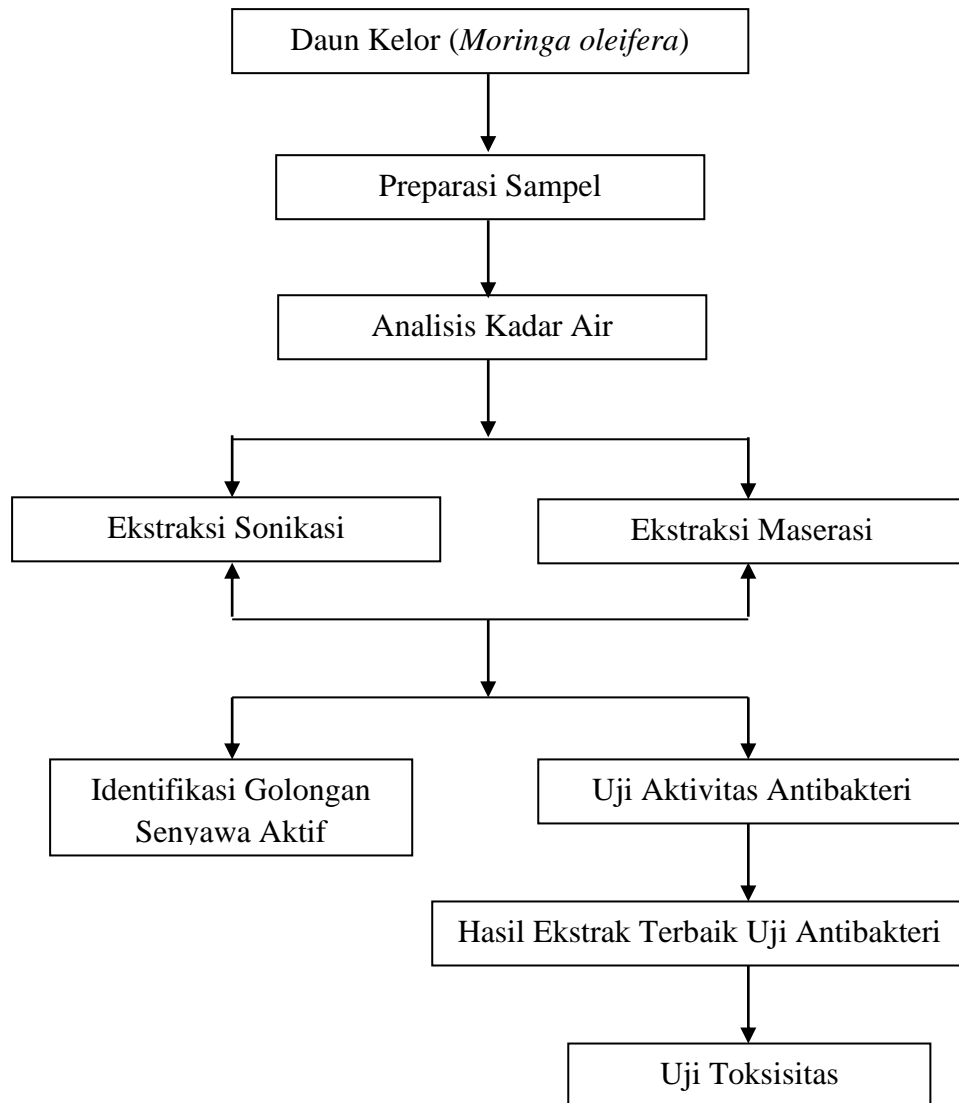
- Microbiology. *SANITAS: Jurnal Teknologi Dan Seni Kesehatan* 10 (2): 102–16.
- Rahayu, T. B., dan Yespy Anna Wahyu Nurindahsari. 2019. Peningkatan Status Gizi Balita Melalui Pemberian Daun Kelor (*Moringa Oleifera*). *Jurnal Kesehatan Madani Medika*, Vol 9 No 2.
- Rajendran, A., R. Sudeshraj, dan S. Sureshkumar. 2019. Phytonutrients: Moringa Oleifera Leaf Extracts an Incredible Health Super Food Supplement. *The Pharma Innovation Journal*, 8(2): 29–33
- Rizkayanti, Anang Wahid M. Diah, dan Minarni Rama Jura. 2017. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air Dan Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa Oleifera* LAM). *Jurnal Akademika Kimia* 6 (2): 125–131.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*. Bandung: ITB
- Rohmaniyah, M. 2016. Uji Antioksidan Ekstrak Etanol 80% dan Fraksi Aktif Rumput Bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) Menggunakan Metode DPPH serta Identifikasi Senyawa Aktifnya. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Rollando. 2019. *Senyawa Antibakteri dari Fungi Endofit*. Malang: Seribu Bintang.
- Roni, A., Maesaroh, dan Lia Marliani. 2019. Aktivitas Antibakteri Biji, Kulit Dan Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Kartika: Jurnal Ilmiah Farmasi* 6 (1): 29–33.
- Salehan, N. A. M., Ahmad Ziad Sulaiman, dan Azilah Ajit. 2016. Effect of Temperature and Sonication on the Extraction of Gallic Acid from Labisia Pumila (Kacip Fatimah). *ARPJ Journal of Engineering and Applied Sciences* 11 (4): 2193–2198.
- Samosir, P. E., Fitry Tafzi, dan Indriyani Indriyani. 2019. Pengaruh Metode Pengeringan Daun Pedada (*Sonneratia caseolaris*) Untuk Membuat Minuman Fungsional Sebagai Sumber Antioksidan. In *Seminar Nasional Pembangunan Pertanian Berkelanjutan Berbasis Sumber Daya Lokal*. 318–42.
- Sani, R. N., Fithri Choirun Nisa, Ria Dewi Andriani, dan Jaya Mahar Maligan. 2014. Analisis Rendemen dan Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Mikroalga Laut *Tetraselmis chuii*. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri* 2 (2): 121–126.
- Saputra, O., dan Nur Anggraini. 2016. Khasiat Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap Penyembuhan *Acne Vulgaris*. *Jurnal Majority* 5 (1): 76–80.

- Sasongko, P., Wahyu Mushollaeni, dan Herman. 2014. Aktivitas Antibakteri Asap Cair dari Limbah Tempurung Kelapa Terhadap Daging Kelinci Asap. *Buana Sains* 14 (2): 193–197.
- Satuhu, S., dan Sri Yulianti. 2012. *Panduan Lengkap Minyak Asiri*. Jakarta: Penebar Swadaya Grup.
- Septiana, A. T., dan Ari Asnani. 2016. Kajian Sifat Fisikokimia Ekstrak Rumput Laut Coklat Sargassum Duplicatum Menggunakan Berbagai Pelarut dan Metode Ekstraksi. *Agrointek*: 6 (1): 22–28.
- Septiana, I. B., dan Taupik Sopyan. 2016. Uji Ekstrak Daun Beluntas (*Pluchea Indica* L. Less) Terhadap Zona Hambat Bakteri *Escherichia coli* Patogen Secara in Vitro. *Bioed: Jurnal Pendidikan Biologi* 4 (1).
- Septiani, Eko Nurcahya D., dan Ima Wijayanti. 2017. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Lamun (*Cymodocea rotundata*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*. *Saintek Perikanan: Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology* 13 (1): 1–6.
- Setyowati, W. A. E., dan Muhammad Agung Safari Cahyanto. 2016. Kandungan Kimia dan Uji Aktivitas Toksik Menggunakan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) Dari Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia Calabura*). *Jurnal Kimia Dan Pendidikan Kimia* 1 (2): 41–47.
- Simaremare, E. S. 2014. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Gatal (*Laportea decumana* (Roxb.) Wedd). *PHARMACY: Jurnal Farmasi Indonesia (Pharmaceutical Journal of Indonesia)* 11 (1).
- Sitorus, B., Veinardi Suendo, dan Ferdinand Hidayat. 2011. Sintesis Polimer Konduktif Sebagai Bahan Baku Untuk Perangkat Penyimpan Energi Listrik. *ELKHA: Jurnal Teknik Elektro* 3 (1).
- Soliman, A. M., Aboubakar, M., and El-Hewaity, M. 2015. Bioequivalence Study of Two Oral Doxycycline Formulations (Doxysol And Doxymed) in Healthy Broiler Chickens. *Pharmacology and Pharmacy Sci Res.* 6, 1-8.
- Sondari, D., Tun Tedja Irawadi, Dwi Setyaningsih, dan Silvester Tursiloadi. 2018. Studi Awal Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Rendemen Dan Kadar Asiaticoside Dari *Centella Asiatica* (L) Urb. *Jurnal Sains Materi Indonesia* 17 (3): 124–130.
- Sudarmi, K., Ida Bagus Gede Darmayasa, dan I. Ketut Muksin. 2017. Uji Fitokimia dan Daya Hambat Ekstrak Daun Juwet (*Syzygium Cumini*) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* ATCC. *SIMBIOSIS* 5 (2): 47–51.
- Sudarwati D., dan Woro Sumarni. 2016. Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri pada Ekstrak Daun Kelor dan Bunga Rosella. *Indo. J. Chem. Sci.* 5 (1).

- Sugiharti, R. J., Iim Halimah, Isa Mahendra, dan Maula Eka Sriyani. 2016. Evaluasi Spesifisitas Radiofarmaka ^{99m}Tc-Ketokonazol Pada Infeksi Yang Disebabkan Oleh *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*. *Jurnal Sains Dan Teknologi Nuklir Indonesia* 17 (2): 71–82.
- Suhartini. 2017. Keefektifan Ekstrak *Eleutherine Palmifolia* L. Terhadap Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. *MMLTJ (Mahakam Medical Laboratory Technology Journal)* 2 (1): 10–17.
- Suriyawati, N. 2018. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 96% Kombinasi Kunyit Putih (*Curcuma zedoaria* Rosc.) dan Buah Pare (*Momordica charantia* L.) Menggunakan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Surya, A. 2018. Toksisitas Ekstrak Metanol Kulit Jengkol (*Pithecellobium Jiringa*) Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* Terhadap Larva Udang (*Artemia salina*). *Jurnal Rekayasa Sistem Industri* 3 (2): 149–153.
- Suryelita, Sri Benti Etika, dan Nivi Suci Kurnia. 2017. Isolasi Dan Karakterisasi Senyawa Steroid Dari Daun Cemara Natal (*Cupressus funebris* Endl.). *EKSAKTA: Berkala Ilmiah Bidang MIPA* 18 (01): 86–94.
- Susanty, dan Fairus Bachmid. 2016. Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi Dan Refluks Terhadap Kadar Fenolik Dari Ekstrak Tongkol Jagung (*Zea mays* L.). *Jurnal Konversi* 5 (2): 87–92.
- Sutiknowati, L. I.. 2016. Bioindikator Pencemar, Bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Oseana* 41 (4): 63–71.
- Tantrayana, P. B., dan Elok Zubaidah. 2015. Karakteristik Fisik-Kimia Dari Ekstrak Salak Gula Pasir Dengan Metode Maserasi. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri* 3 (4).
- Utomo, A. D., Wiranti Sri Rahayu, dan Binar Asrining Dhiani. 2009. Pengaruh Beberapa Metode Pengeringan Terhadap Kadar Flavonoid Total Herba Sambiloto (*Andrographis Paniculata*). *PHARMACY: Jurnal Farmasi Indonesia (Pharmaceutical Journal of Indonesia)* 6 (01).
- Vilkhu, K., Raymond Mawson, Lloyd Simons, and Darren Bates. 2007. Applications and Opportunities for Ultrasound Assisted Extraction in the Food Industry—A Review. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 9 (2): 161–169.
- Vinoth, B., R. Manivasagaperumal, dan S. Balamurugan. 2012. Phytochemical Analysis and Antibacterial Activity of *Moringa Oleifera* Lam. *Int J Res Biol Sci* 2 (3): 98–102.

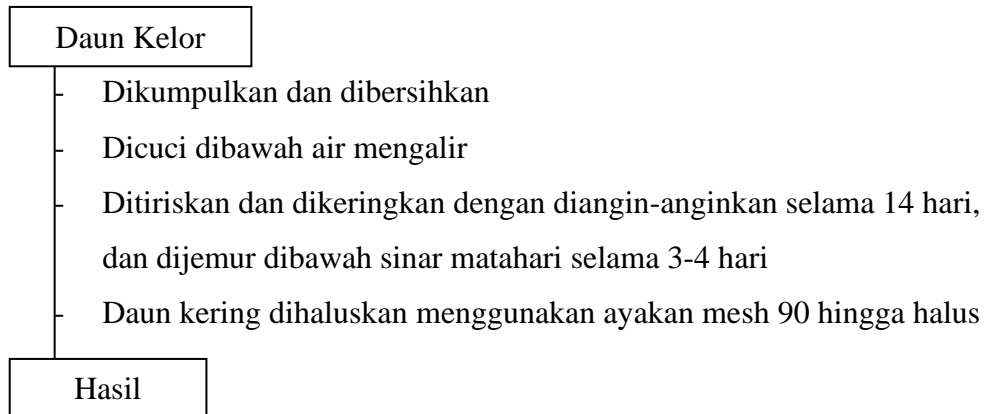
- Vitalia, N., Ahmad Najib, and Aktsar Roskiana Ahmad. 2016. Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pletekan (*Ruellia tuberosa* L.) dengan Menggunakan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia* 3 (1): 124–129.
- Wahyuni, D. T., dan Simon Bambang Widjanarko. 2014. Pengaruh Jenis Pelarut dan Lama Ekstraksi Terhadap Ekstrak Karotenoid Labu Kuning dengan Metode Gelombang Ultrasonik. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri* 3 (2): 390–401.
- Widarta, I. W. R., dan Anak Agung Istri Sri Wiadnyani. 2019. Pengaruh Metode Pengeringan Terhadap Aktivitas Antioksidan Daun Alpukat. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan* 8 (3): 80–85.
- Wilapangga, A., dan Syafrudin Syaputra. 2018. Analisis Antibakteri Metode Agar Cakram dan Uji Toksisitas Menggunakan BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) Dari Ekstrak Metanol Daun Salam (*Eugenia polyantha*). *Indonesian Journal of Biotechnology and Biodiversity* 2 (2): 50–56.
- Winangsih, Erma Prihastanti, dan Sarjana Parman. 2013. Pengaruh Metode Pengeringan terhadap Kualitas Simplisia Lempuyang Wangi (*Zingiber aromaticum* L.). *ANATOMI FISILOGI* 21 (1): 19–25.
- Woelansari, E. D. 2016. Pola Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Pada Media Agar Darah Manusia Golongan O, AB, Dan Darah Domba Sebagai Kontrol. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Kesehatan* 3 (2): 191–200.
- Yan, Y., Xing Li, Chunhong Zhang, Lijuan Lv, Bing Gao, dan Minhui Li. 2021. Research Progress on Antibacterial Activities and Mechanisms of Natural Alkaloids: A Review. *Antibiotics* 10 (3): 318.

Lampiran 1. Rancangan Penelitian

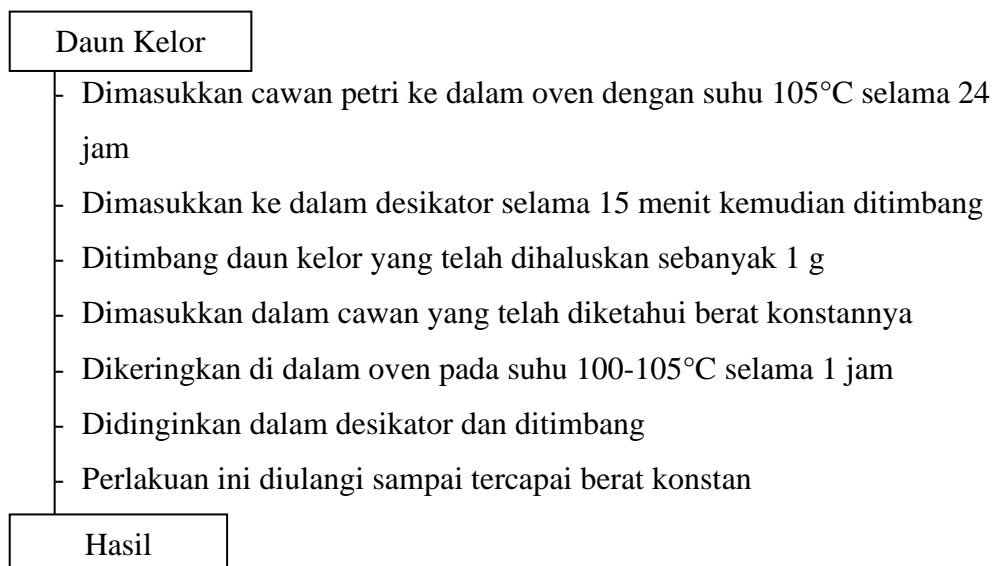


Lampiran 2. Diagram Alir Penelitian

L2.1 Preparasi Sampel

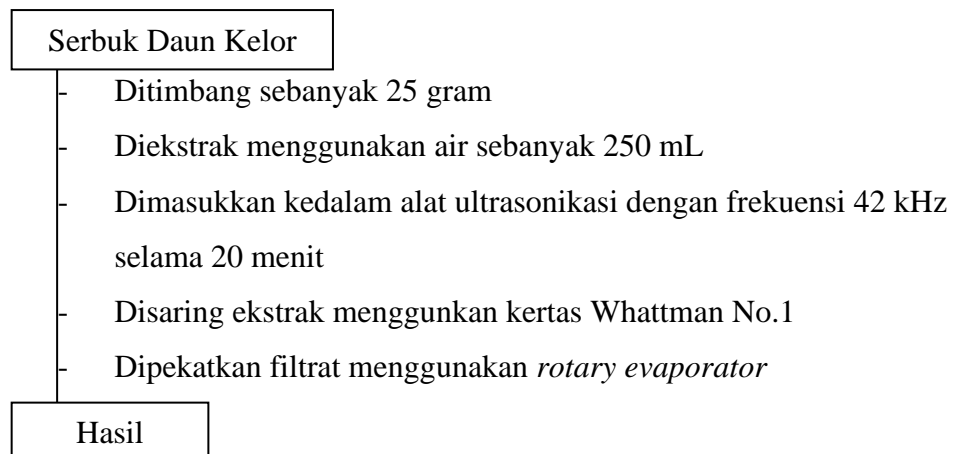


L2.2 Analisis Kadar Air

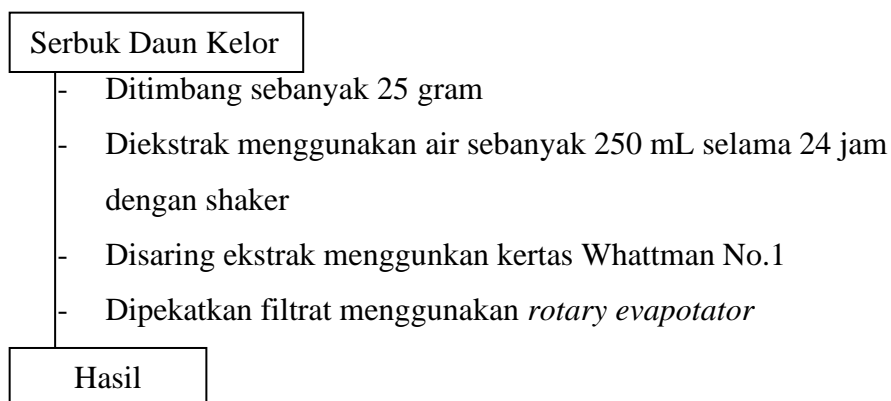


L2.3 Pembuatan Ekstrak Tepung Daun Kelor

L2.3.1 Sonikasi

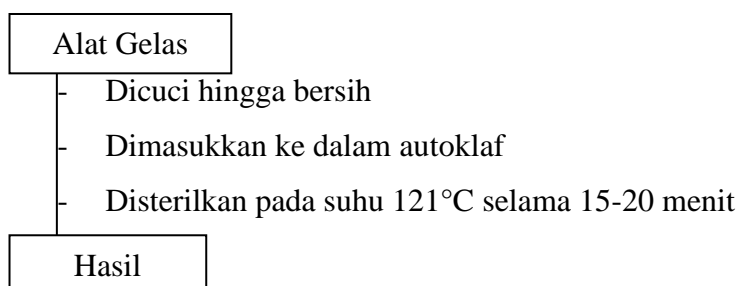


L.2.3.2 Maserasi

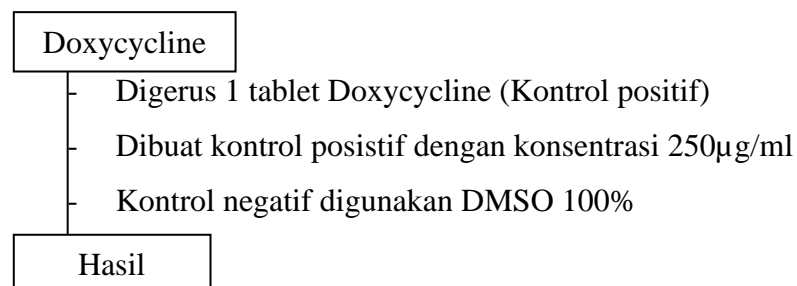


L.2.4 Analisis Aktivitas Antibakteri

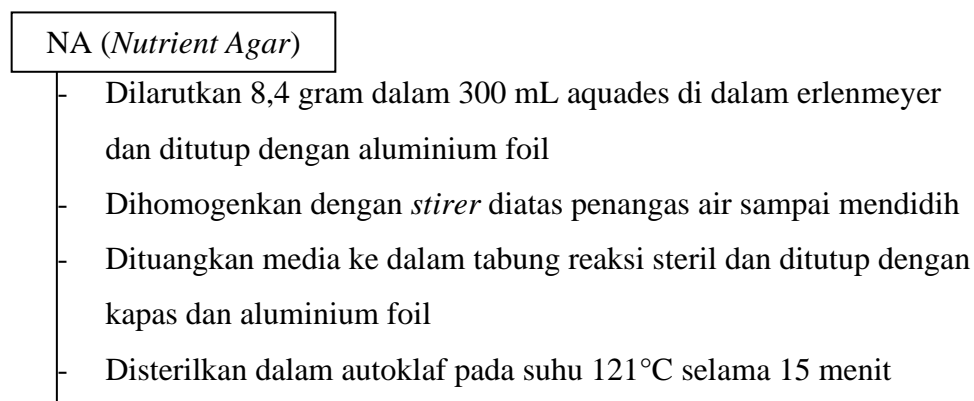
L.2.4.1 Sterilisasi Alat



L.2.4.2 Pembuatan Larutan Kontrol



L.2.4.3 Pembuatan Media



Tabung reaksi diletakkan dalam posisi miring dan dibiarkan sampai media memadat

Hasil

NB (*Nutrient Broth*)

- Dilarutkan 1,3 gram dalam 100 mL aquades di dalam erlenmeyer dan ditutup dengan aluminium foil
- Dihomogenkan dengan *stirer* diatas penangas air sampai mendidih
- Dituangkan media ke dalam botol uc (kaca) steril dan ditutup dengan kapas dan plastik wrap yang dilakukan secara aseptik
- Disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit

Hasil

L.2.4.4 Peremajaan Bakteri

Inokulum murni *Escherichia coli* dan *Staphylococcus*

- Disterilkan jarum ose diatas nyala api
- Diambil bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dari inokulum murni dengan sebanyak 1 ose
- Digoreskan secara aseptik pada media NA miring dan ditutup kembali dengan kapas dan plastik wrap
- Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Hasil

L.2.4.5 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji (Inokulum)

Bakteri uji

- Disterilkan jarum ose diatas nyala api
- Diambil bakteri uji sebanyak 1 ose
- Dibiakkan ke dalam 8 mL media NB (*Nutrient Broth*) steril
- Diinkubasi selama 18 jam dan diukur OD sebesar 0,5 menggunakan Spektrofotometri UV-vis pada panjang gelombang 600 nm

Hasil

L.2.4.6 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kelor

Ekstrak Daun Kelor

- Diambil Inokulum bakteri (biakan aktif) sebanyak 100 μ l ke dalam cawan petri steril
- Dituangkan media NA (*Nutrient Agar*) steril ke dalam cawan petri yang berisi biakan aktif bakteri dan digerakkan membentuk angka 8
- Ditunggu hingga media memadat
- Direndam kertas cakram ke dalam kontrol negatif dan positif serta ekstrak pada konsentrasi 250, 500, 750, 1000, dan 1250 μ g/ml selama 60 menit
- Kertas cakram yang telah direndam ekstrak dan kontrol kemudian diambil dan ditempatkan secara aseptik pada permukaan media yang telah memadat dengan jarak yang sesuai dan tidak saling berdekatan sekitar 3cm dan jarak tepi media 2 cm
- Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam

Hasil

L.2.4.7 Pengamatan dan Pengukuran

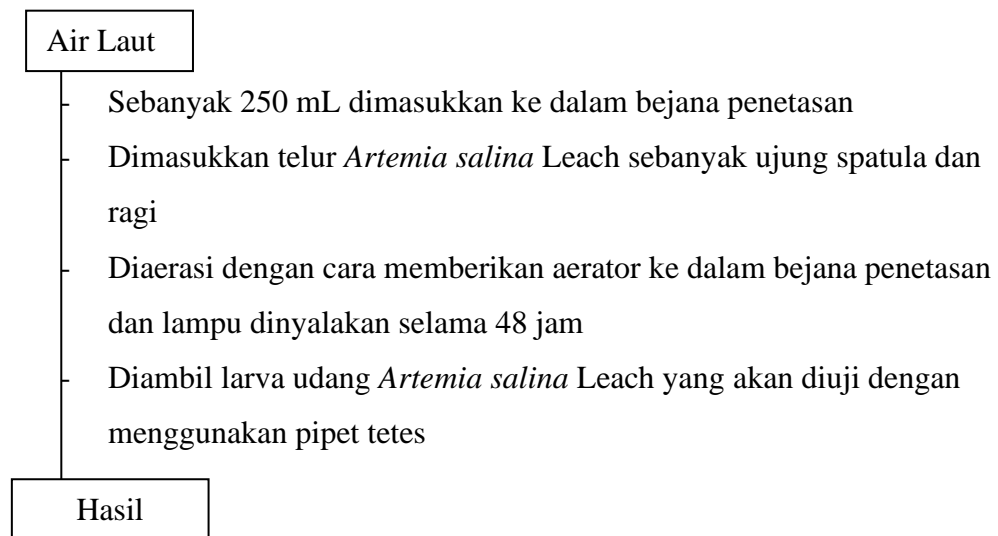
Zona Hambat

- Pengamatan dilakukan setelah 1x24 jam masa inkubasi dalam suhu 37°C.
- Diukur diameter zona hambat dalam satuan milimeter (mm) menggunakan mistar. Rumus perhitungan aktivitas antibakteri : diameter keseluruhan - diameter kertas cakram

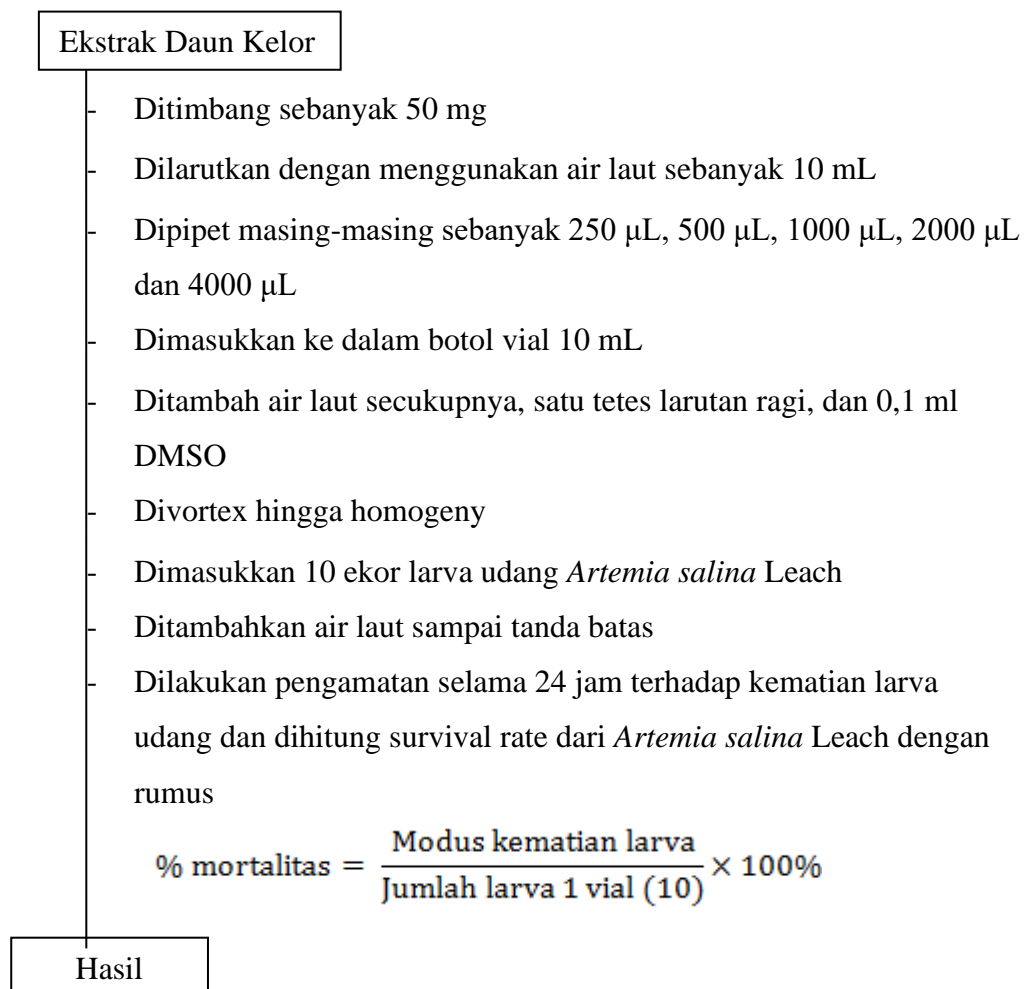
Hasil

L2.5 Analisis Toksisitas Ekstrak Terbaik dari Uji Antibakteri

L2.5.1 Penetasan Telur Larva Udang *Artemia salina* Leach

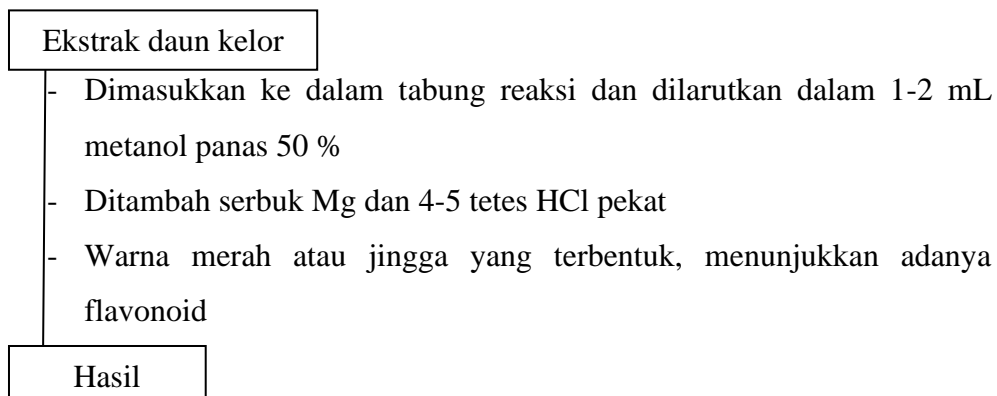


L2.5.2 Uji Toksisitas Ekstrak Daun Kelor

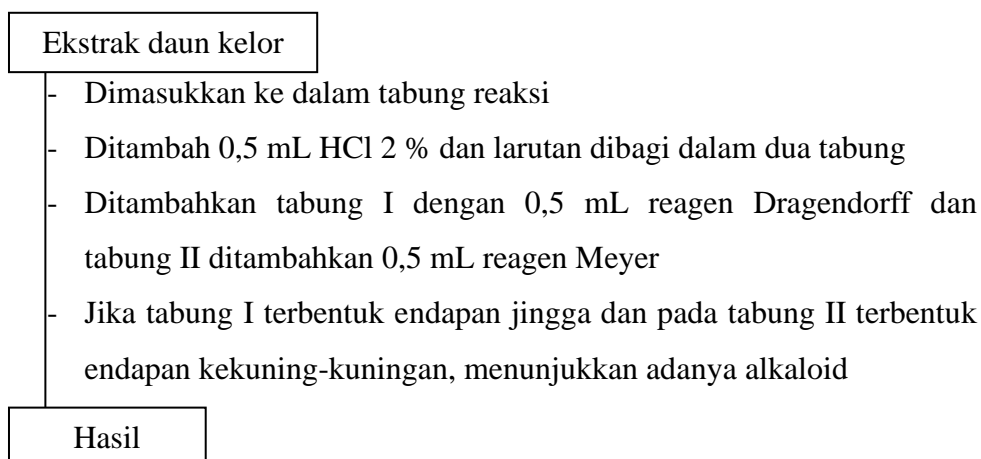


L2.6 Identifikasi Golongan Senyawa Aktif dalam Daun Kelor

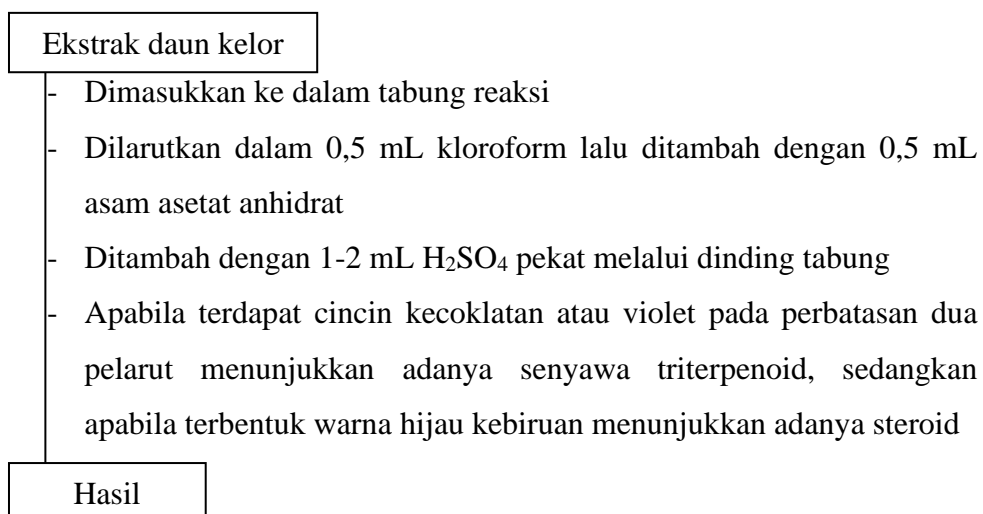
L2.6.1 Uji Flavonoid

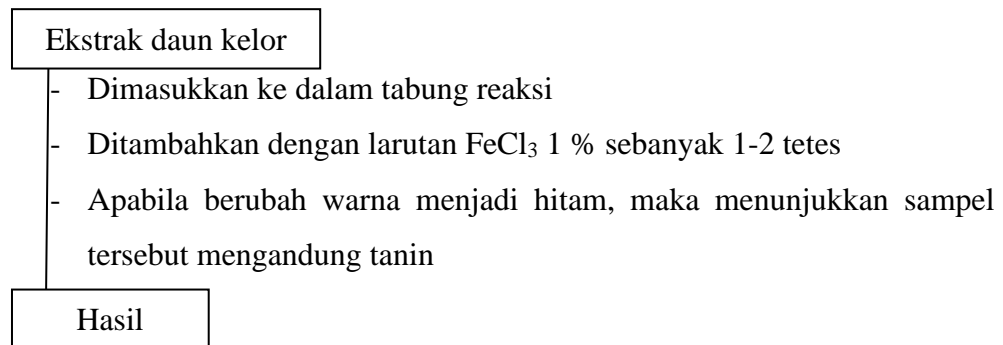
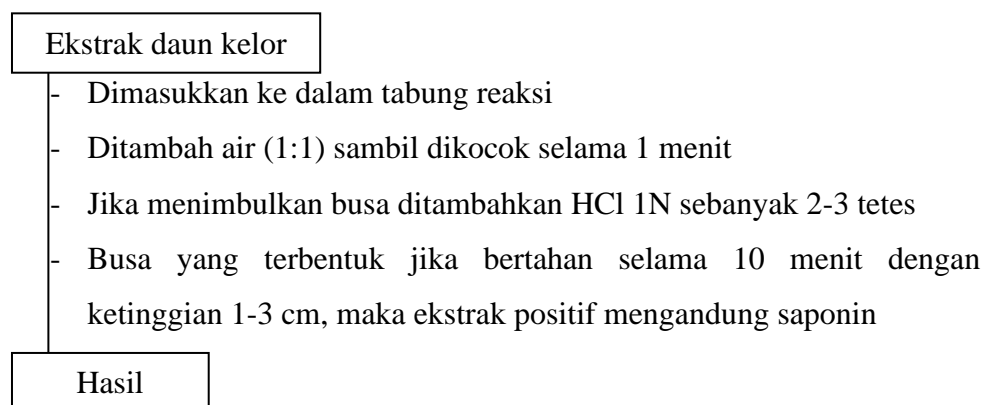


L2.6.2 Uji Alkaloid



L2.6.3 Uji Triterpenoid dan Steroid



L.2.6.4 Uji Tanin**L.2.6.5 Uji Saponin**

Lampiran 3. Perhitungan

L3.1 Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Uji Antibakteri

a. Konsentrasi 250 µg/ml

$$\begin{aligned}\text{Massa sampel} &= 250 \mu\text{g/ml} \times 3 \text{ ml} \\ &= 750 \mu\text{g} \\ &= 0,75 \text{ mg}\end{aligned}$$

Jadi, untuk membuat larutan uji 250 µg/ml diperlukan ekstrak sebanyak 0,75 mg dan dilarutkan dalam pelarutnya sampai volume 3 ml hingga diperoleh ekstrak dengan konsentrasi 250 µg/ml.

b. Konsentrasi 500 µg/ml

$$\begin{aligned}\text{Massa sampel} &= 500 \mu\text{g/ml} \times 3 \text{ ml} \\ &= 1500 \mu\text{g} \\ &= 1,5 \text{ mg}\end{aligned}$$

Jadi, untuk membuat larutan uji 500 µg/ml diperlukan ekstrak sebanyak 1,5 mg dan dilarutkan dalam pelarutnya sampai volume 3 ml hingga diperoleh ekstrak dengan konsentrasi 500 µg/ml.

c. Konsentrasi 750 µg/ml

$$\begin{aligned}\text{Massa sampel} &= 750 \mu\text{g/ml} \times 3 \text{ ml} \\ &= 2250 \mu\text{g} \\ &= 2,25 \text{ mg}\end{aligned}$$

Jadi, untuk membuat larutan uji 750 µg/ml diperlukan ekstrak sebanyak 2,25 mg dan dilarutkan dalam pelarutnya sampai volume 3 ml hingga diperoleh ekstrak dengan konsentrasi 750 µg/ml.

d. Konsentrasi 1000 µg/ml

$$\begin{aligned}
 \text{Massa sampel} &= 1000 \mu\text{g/ml} \times 3 \text{ ml} \\
 &= 3000 \mu\text{g} \\
 &= 3 \text{ mg}
 \end{aligned}$$

Jadi, untuk membuat larutan uji 1000 µg/ml diperlukan ekstrak sebanyak 3 mg dan dilarutkan dalam pelarutnya sampai volume 3 ml hingga diperoleh ekstrak dengan konsentrasi 1000 µg/ml.

e. Konsentrasi 125 µg/ml

$$\begin{aligned}
 \text{Massa sampel} &= 1250 \mu\text{g/ml} \times 3 \text{ ml} \\
 &= 3750 \mu\text{g} \\
 &= 3,75 \text{ mg}
 \end{aligned}$$

Jadi, untuk membuat larutan uji 1250 µg/ml diperlukan ekstrak sebanyak 3,75 mg dan dilarutkan dalam pelarutnya sampai volume 3 ml hingga diperoleh ekstrak dengan konsentrasi 1250 µg/ml.

L3.2 Pembuatan Larutan Stok 1000 ppm untuk Uji Toksisitas

$$\text{Volume labu ukur} = 50 \text{ mL}$$

$$\text{ppm} = \mu\text{g/mL}$$

$$\text{M larutan stok} = 1000 \text{ ppm} = 1000 \mu\text{g/mL}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Massa ekstrak} &= 1000 \mu\text{g/mL} \times 50 \text{ mL} \\
 &= 50000 \mu\text{g} \\
 &= 50 \text{ mg}
 \end{aligned}$$

Jadi untuk pembuat larutan stok 1000 ppm, dibutuhkan ekstrak sebanyak 50 mg, kemudian ditambahkan oleh pelarutnya hingga tanda batas dan dikocok hingga homogen.

L3.3 Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Uji Toksisitas

a. Konsentrasi 25 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V_1 = 25 \text{ ppm} \times 10 \text{ ml}$$

$$V_1 = 0,25 \text{ ml}$$

Jadi, untuk membuat konsentrasi ekstrak 25 ppm diperlukan larutan stok 1000 ppm sebanyak 0,25 ml.

b. Konsentrasi 50 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V_1 = 50 \text{ ppm} \times 10 \text{ ml}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ ml}$$

Jadi, untuk membuat konsentrasi ekstrak 50 ppm diperlukan larutan stok 1000 ppm sebanyak 0,5 ml.

c. Konsentrasi 100 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V_1 = 100 \text{ ppm} \times 10 \text{ ml}$$

$$V_1 = 1 \text{ ml}$$

Jadi, untuk membuat konsentrasi ekstrak 100 ppm diperlukan larutan stok 1000 ppm sebanyak 1 ml.

d. Konsentrasi 200 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V_1 = 200 \text{ ppm} \times 10 \text{ ml}$$

$$V_1 = 2 \text{ ml}$$

Jadi, untuk membuat konsentrasi ekstrak 200 ppm diperlukan larutan stok

1000 ppm sebanyak 2 ml.

e. Konsentrasi 400 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V_1 = 400 \text{ ppm} \times 10 \text{ ml}$$

$$V_1 = 4 \text{ ml}$$

Jadi, untuk membuat konsentrasi ekstrak 400 ppm diperlukan larutan stok

1000 ppm sebanyak 4 ml.

Lampiran 4. Data dan Perhitungan Hasil Penelitian

L.4.1 Preparasi Sampel

L.4.1.1 Tabel Hasil Preparasi Sampel

| Sampel | Berat Awal (kg) | Berat Akhir (g) |
|-------------------------|--------------------|--------------------|
| Daun kelor kering angin | 1 | 600 |
| Daun kelor kering jemur | 1 | 745 |

L.4.2 Kadar Air Daun Kelor

L.4.2.1 Perhitungan Kadar Air Daun Kelor Sampel Kering Angin

| Pengulangan | Berat Cawan Kosong (g) | Berat Cawan + Sampel (g) | Berat Cawan + Sampel dikeringkan (g) |
|-------------|---------------------------|-----------------------------|---|
| 1 | 73,4301 | 74,4606 | 74,3731 |
| 2 | 73,4603 | | 74,3659 |
| 3 | 73,4604 | | 74,3758 |
| 4 | 73,4605 | | 74,3651 |
| 5 | 73,4606 | | 74,3636 |
| 6 | 73,4606 | | 74,3616 |
| 7 | 73,4606 | | 74,3627 |

$$\text{Kadar air} = \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100\%$$

$$\text{Kadar air} = \frac{74,4606 - 74,3627}{74,4606 - 73,4606} \times 100\%$$

$$\text{Kadar air} = 9,79 \%$$

Keterangan:

a = berat cawan kosong

b = berat sampel + cawan sebelum dikeringkan

c = berat sampel + cawan setelah dikeringkan

L.4.2.2 Perhitungan Kadar Air Daun Kelor Sampel Kering Jemur

| Pengulangan | Berat Cawan Kosong (g) | Berat Cawan + Sampel (g) | Berat Cawan + Sampel dikeringkan (g) |
|-------------|---------------------------|-----------------------------|---|
| 1 | 65,0347 | 66,0555 | 65,9872 |
| 2 | 65,0547 | | 65,9822 |
| 3 | 65,0549 | | 65,9908 |
| 4 | 65,0555 | | 65,9749 |
| 5 | 65,0555 | | 65,9759 |
| 6 | 65,0555 | | 65,9736 |
| 7 | 65,0555 | | 65,9733 |

$$\text{Kadar air} = \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100\%$$

$$\text{Kadar air} = \frac{66,0555 - 65,9733}{66,0555 - 65,0555} \times 100\%$$

$$\text{Kadar air} = 8,22 \%$$

Keterangan:

a = berat cawan kosong

b = berat sampel + cawan sebelum dikeringkan

c = berat sampel + cawan setelah dikeringkan

L.4.3 Perhitungan Rendemen Ekstrak Daun Kelor

L.4.3.1 Perhitungan Rendemen Hasil Sonikasi

| Sampel | Berat Awal Sampel (gr) | Berat Akhir Sampel (gr) | Rendemen (%) |
|-------------------------|------------------------|-------------------------|--------------|
| Daun kelor kering angin | 25 | 3,69 | 14,76 |
| Daun kelor kering jemur | 25 | 4,46 | 17,84 |

a. Daun kelor kering angin

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{berat akhir sampel}}{\text{berat awal sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{7,59 \text{ gr}}{25 \text{ gr}} \times 100\% \\ &= 30,36\% \end{aligned}$$

b. Daun kelor kering jemur

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{berat akhir sampel}}{\text{berat awal sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{10,12 \text{ gr}}{25 \text{ gr}} \times 100\% \\ &= 40,48\% \end{aligned}$$

L.4.3.2 Perhitungan Rendemen Hasil Maserasi

| Sampel | Berat Awal Sampel (gr) | Berat Akhir Sampel (gr) | Rendemen (%) |
|-------------------------|------------------------|-------------------------|--------------|
| Daun kelor kering angin | 25 | 7,59 | 30,36% |
| Daun kelor kering jemur | 25 | 10,12 | 40,48% |

a. Daun kelor kering angin

$$\begin{aligned}\% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{berat akhir sampel}}{\text{berat awal sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{3,69 \text{ gr}}{25 \text{ gr}} \times 100\% \\ &= 14,76\%\end{aligned}$$

b. Daun kelor kering jemur

$$\begin{aligned}\% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{berat akhir sampel}}{\text{berat awal sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{4,46 \text{ gr}}{25 \text{ gr}} \times 100\% \\ &= 17,84\%\end{aligned}$$

Lampiran 5. Data Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

L.5.1 Bakteri *Eschericia coli*

L.5.1.1 Ekstrak Sonikasi Sampel Kering Angin

| Konsentrasi (µg/ml) | Zona Hambat (mm) | | | | | | | Rata-rata |
|------------------------|------------------|-----|------|-----------|-----|-----|------|-----------|
| | U1 | | | Rata-rata | U2 | | | |
| | 1 | 2 | 3 | | 1 | 2 | 3 | |
| 250 | 1.8 | 1.8 | 1.5 | 1.7 | 1.6 | 1.3 | 1.5 | 1.47 |
| 500 | 2.7 | 2.9 | 2.8 | 2.8 | 2.6 | 3.8 | 2.4 | 2.93 |
| 750 | 3.8 | 3.2 | 3.8 | 3.6 | 3.7 | 4.3 | 3.8 | 3.93 |
| 1000 | 4.8 | 5 | 4.7 | 4.83 | 4 | 4.6 | 3.9 | 4.17 |
| 1250 | 5.2 | 5.8 | 5.1 | 5.37 | 5.3 | 5.7 | 5.3 | 5.43 |
| Kontrol (+) | | | 10.7 | | | | 11.3 | |
| Kontrol (-) | | | 0 | | | | 0 | |

L.5.1.2 Ekstrak Sonikasi Sampel Kering Jemur

| Konsentrasi (µg/ml) | Zona Hambat (mm) | | | | | | | Rata-rata |
|------------------------|------------------|-----|------|-----------|-----|-----|-----|-----------|
| | U1 | | | Rata-rata | U2 | | | |
| | 1 | 2 | 3 | | 1 | 2 | 3 | |
| 250 | 1.4 | 1.5 | 1.9 | 1.6 | 1.4 | 1.7 | 2 | 1.7 |
| 500 | 2.7 | 2.7 | 2.9 | 2.77 | 2.3 | 2.5 | 2.9 | 2.57 |
| 750 | 3.5 | 3.4 | 3.8 | 3.57 | 3.7 | 3.4 | 3.2 | 3.43 |
| 1000 | 4.9 | 4.8 | 4.8 | 4.83 | 4.8 | 4.7 | 4.4 | 4.6 |
| 1250 | 5.6 | 5.7 | 5.9 | 5.73 | 5.9 | 5.6 | 5.8 | 5.77 |
| Kontrol (+) | | | 11.2 | | | | 10 | |
| Kontrol (-) | | | 0 | | | | 0 | |

L.5.1.3 Ekstrak Maserasi Sampel Kering Angin

| Konsentrasi (µg/ml) | Zona Hambat (mm) | | | | | | | Rata-rata |
|------------------------|------------------|------|------|-----------|-----|-----|------|-----------|
| | U1 | | | Rata-rata | U2 | | | |
| | 1 | 2 | 3 | | 1 | 2 | 3 | |
| 250 | 1.6 | 1.8 | 1.4 | 1.6 | 1.9 | 1.5 | 2.8 | 2.17 |
| 500 | 2 | 2.65 | 3.2 | 2.67 | 2.8 | 2.9 | 3.2 | 2.97 |
| 750 | 3.2 | 3.2 | 3.7 | 3.37 | 2.9 | 3.3 | 3.3 | 3.17 |
| 1000 | 3.9 | 4.1 | 4.2 | 4.07 | 3 | 3.8 | 3.6 | 3.47 |
| 1250 | 4.8 | 4.9 | 4.8 | 4.83 | 4 | 4.9 | 4 | 4.3 |
| Kontrol (+) | | | 11.6 | | | | 10.5 | |
| Kontrol (-) | | | 0 | | | | 0 | |

L.5.1.4 Ekstrak Maserasi Sampel Kering Jamur

| Konsentrasi (µg/ml) | Zona Hambat (mm) | | | | | | | |
|------------------------|------------------|-----|------|-----------|-----|-----|------|-----------|
| | U1 | | | Rata-rata | U2 | | | Rata-rata |
| | 1 | 2 | 3 | | 1 | 2 | 3 | |
| 250 | 1.4 | 1.3 | 1.9 | 1.53 | 1.6 | 1.3 | 1.8 | 1.57 |
| 500 | 2.8 | 2.7 | 2.3 | 2.6 | 2.8 | 2.7 | 2.8 | 2.77 |
| 750 | 3.8 | 3.3 | 3.3 | 3.47 | 3 | 3.8 | 3.6 | 3.47 |
| 1000 | 4.1 | 3.9 | 4 | 4 | 3.8 | 3.9 | 3.7 | 3.8 |
| 1250 | 5.55 | 4.7 | 5 | 5.08 | 4.2 | 4.3 | 4.3 | 4.27 |
| Kontrol (+) | | | 10.7 | | | | 10.9 | |
| Kontrol (-) | | | 0 | | | | 0 | |

L.5.2 Bakteri *Staphylococcus aureus*

L.5.2.1 Ekstrak Sonikasi Sampel Kering Angin

| Konsentrasi (µg/ml) | Zona Hambat (mm) | | | | | | | |
|------------------------|------------------|-----|------|-----------|-----|-----|------|-----------|
| | U1 | | | Rata-rata | U2 | | | Rata-rata |
| | 1 | 2 | 3 | | 1 | 2 | 3 | |
| 250 | 1.3 | 2 | 1.3 | 1.53 | 1.9 | 2.5 | 2.6 | 2.33 |
| 500 | 4.67 | 2.6 | 2.6 | 3.29 | 2.3 | 3.2 | 3.1 | 2.87 |
| 750 | 3.2 | 3.5 | 3.8 | 3.5 | 3.4 | 3.8 | 3.6 | 3.6 |
| 1000 | 3.9 | 4.1 | 4.1 | 4.03 | 4 | 3.9 | 3.9 | 3.93 |
| 1250 | 4.9 | 5.1 | 5.2 | 5.06 | 4.8 | 4.3 | 4.9 | 4.67 |
| Kontrol (+) | | | 10.8 | | | | 11.3 | |
| Kontrol (-) | | | 0 | | | | 0 | |

L.5.2.2 Ekstrak Sonikasi Sampel Kering Jamur

| Konsentrasi (µg/ml) | Zona Hambat (mm) | | | | | | | |
|------------------------|------------------|-----|------|-----------|-----|-----|-----|-----------|
| | U1 | | | Rata-rata | U2 | | | Rata-rata |
| | 1 | 2 | 3 | | 1 | 2 | 3 | |
| 250 | 1.7 | 1.2 | 1.2 | 1.37 | 2.3 | 2.6 | 3 | 2.63 |
| 500 | 3.4 | 3.3 | 2.2 | 2.97 | 2.8 | 3.2 | 3.6 | 3.2 |
| 750 | 3.8 | 3.7 | 3.3 | 3.6 | 3.8 | 3.4 | 3.9 | 3.7 |
| 1000 | 4.7 | 4.9 | 4.8 | 4.8 | 4.1 | 4.3 | 4.8 | 4.4 |
| 1250 | 5.8 | 5 | 5.2 | 5.3 | 5.7 | 5.9 | 5.9 | 5.83 |
| Kontrol (+) | | | 10.2 | | | | 11 | |
| Kontrol (-) | | | 0 | | | | 0 | |

L.5.2.3 Ekstrak Maserasi Sampel Kering Angin

| Konsentrasi (µg/ml) | Zona Hambat (mm) | | | | | | | |
|------------------------|------------------|-----|------|-----------|-----|-----|------|-----------|
| | U1 | | | Rata-rata | U2 | | | Rata-rata |
| | 1 | 2 | 3 | | 1 | 2 | 3 | |
| 250 | 1.2 | 1.2 | 1.3 | 1.23 | 1.9 | 1.2 | 2 | 1.7 |
| 500 | 2.4 | 2.4 | 2.8 | 2.53 | 2.7 | 2.6 | 2.8 | 2.7 |
| 750 | 3.4 | 3.2 | 3.7 | 3.43 | 3.8 | 3.8 | 2.5 | 3.37 |
| 1000 | 3.9 | 4.4 | 4 | 4.1 | 4.4 | 3.9 | 3 | 3.77 |
| 1250 | 4.7 | 4.6 | 4 | 4.43 | 4.5 | 4 | 4 | 4.17 |
| Kontrol (+) | | | 11.1 | | | | 10.5 | |
| Kontrol (-) | | | 0 | | | | 0 | |

L.5.2.4 Ekstrak Maserasi Sampel Kering Jemur

| Konsentrasi (µg/ml) | Zona Hambat (mm) | | | | | | | |
|------------------------|------------------|-----|-----|-----------|-----|-----|-----|-----------|
| | U1 | | | Rata-rata | U2 | | | Rata-rata |
| | 1 | 2 | 3 | | 1 | 2 | 3 | |
| 250 | 1.2 | 1.7 | 2 | 1.67 | 2.2 | 2.7 | 2.8 | 2.57 |
| 500 | 2.8 | 2.6 | 3 | 2.8 | 3 | 2.8 | 3 | 2.93 |
| 750 | 3.2 | 2.9 | 3.2 | 3.1 | 3.2 | 2.9 | 3.4 | 3.17 |
| 1000 | 3.9 | 3.3 | 3.4 | 3.53 | 3.8 | 3.2 | 3.7 | 3.57 |
| 1250 | 4.4 | 4.5 | 4.3 | 4.4 | 4 | 3.9 | 3.9 | 3.93 |
| Kontrol (+) | | | 11 | | | | 10 | |
| Kontrol (-) | | | 0 | | | | 0 | |

Lampiran 6. Hasil Analisis dengan *Two Way Anova* dan Uji BNT *Anova*

L.6.1 Hasil Analisis Anova Bakteri *E.coli*

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Zona_Hambat

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|-----------------------|-------------------------|----|-------------|----------|------|
| Corrected Model | 59.377 ^a | 19 | 3.125 | 48.746 | .000 |
| Intercept | 475.962 | 1 | 475.962 | 7424.146 | .000 |
| Konsentrasi | 55.721 | 4 | 13.930 | 217.286 | .000 |
| Ekstrak | 1.458 | 3 | .486 | 7.578 | .001 |
| Konsentrasi * Ekstrak | 2.199 | 12 | .183 | 2.858 | .018 |
| Error | 1.282 | 20 | .064 | | |
| Total | 536.622 | 40 | | | |
| Corrected Total | 60.660 | 39 | | | |

a. R Squared = .979 (Adjusted R Squared = .959)

Homogeneous Subsets

Zona_Hambat

| Konsentrasi | | N | Subset | | | | |
|--------------------------|------------|---|--------|--------|--------|--------|--------|
| | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Tukey HSD ^{a,b} | 250 µg/ml | 8 | 1.6675 | | | | |
| | 500 µg/ml | 8 | | 2.7600 | | | |
| | 750 µg/ml | 8 | | | 3.5012 | | |
| | 1000 µg/ml | 8 | | | | 4.2213 | |
| | 1250 µg/ml | 8 | | | | | 5.0975 |
| | Sig. | | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .064.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 8.000.

b. Alpha = .05.

Homogeneous Subsets

Zona_Hambat

| Ekstrak | N | Subset | |
|------------------------------|----|--------|--------|
| | | 1 | 2 |
| Tukey HSD ^{a,b} MKJ | 10 | 3.2560 | |
| MKA | 10 | 3.2620 | |
| SKA | 10 | | 3.6230 |
| SKJ | 10 | | 3.6570 |
| Sig. | | 1.000 | .990 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .064.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.

b. Alpha = .05.

L.6.2 Hasil Analisis Anova Bakteri *S.aureus*

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Zona_Hambat

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|-----------------------|-------------------------|----|-------------|----------|------|
| Corrected Model | 42.151 ^a | 19 | 2.218 | 19.443 | .000 |
| Intercept | 460.430 | 1 | 460.430 | 4035.232 | .000 |
| Konsentrasi | 37.488 | 4 | 9.372 | 82.137 | .000 |
| Ekstrak | 2.711 | 3 | .904 | 7.919 | .001 |
| Konsentrasi * Ekstrak | 1.952 | 12 | .163 | 1.426 | .233 |
| Error | 2.282 | 20 | .114 | | |
| Total | 504.863 | 40 | | | |
| Corrected Total | 44.433 | 39 | | | |

a. R Squared = .949 (Adjusted R Squared = .900)

Homogeneous Subsets

Zona_Hambat

| Konsentrasi | N | Subset | | | | |
|------------------------------------|---|--------|--------|--------|--------|---|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Tukey HSD ^{a,b} 250 µg/ml | 8 | 1.8788 | | | | |
| 500 µg/ml | 8 | | 2.9113 | | | |
| 750 µg/ml | 8 | | | 3.4338 | | |
| 1000 µg/ml | 8 | | | | 4.0163 | |

| | | | | | | |
|------------|---|-------|-------|-------|-------|--------|
| 1250 µg/ml | 8 | | | | | 4.7238 |
| Sig. | | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .114.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 8.000.

b. Alpha = .05.

Homogeneous Subsets

Zona_Hambat

| Ekstrak | | N | Subset | |
|--------------------------|------|----|--------|--------|
| | | | 1 | 2 |
| Tukey HSD ^{a,b} | MKA | 10 | 3.1430 | |
| | MKJ | 10 | 3.1670 | |
| | SKA | 10 | 3.4810 | 3.4810 |
| | SKJ | 10 | | 3.7800 |
| | Sig. | | .147 | .229 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .114.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.

b. Alpha = .05.

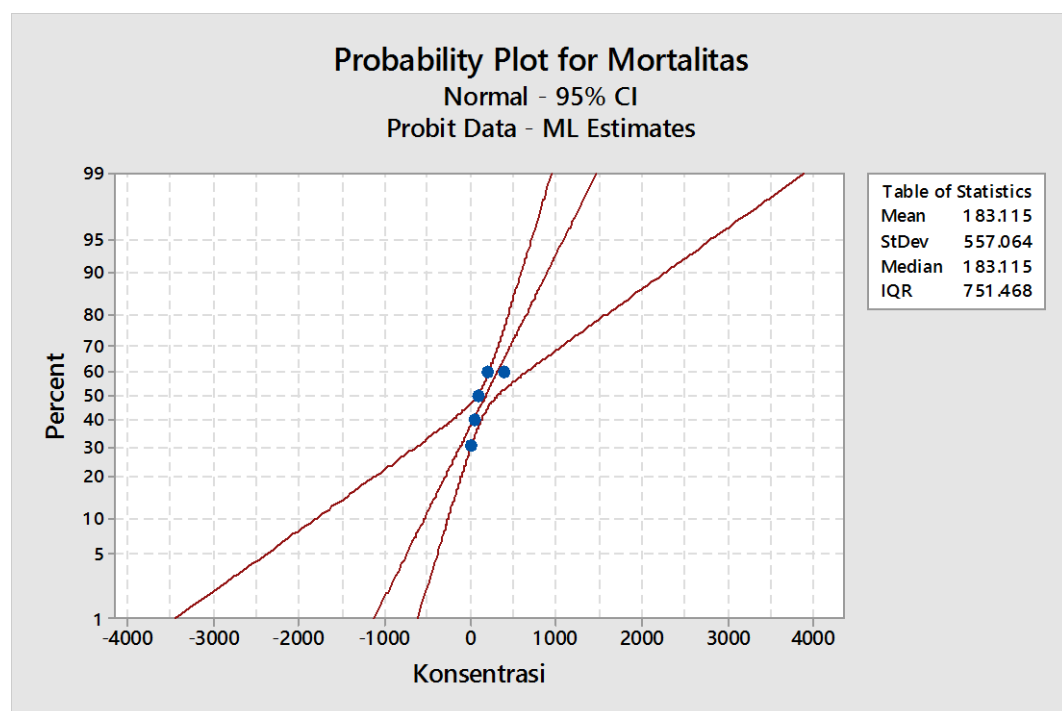
Lampiran 7. Data Hasil Uji Toksisitas

L.7.1 Hasil Uji Toksisitas Ekstrak Sonikasi Sampel Kering Jemur

| Konsentrasi (ppm) | Jumlah larva mati | | | | | Modus | Mortalitas |
|----------------------|-------------------|----|----|----|----|-------|------------|
| | U1 | U2 | U3 | U4 | U5 | | |
| 25 | 2 | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 | 15 |
| 50 | 4 | 3 | 3 | 4 | 4 | 4 | 20 |
| 100 | 3 | 3 | 5 | 5 | 5 | 5 | 25 |
| 200 | 3 | 5 | 6 | 6 | 4 | 6 | 30 |
| 400 | 5 | 6 | 7 | 6 | 6 | 6 | 30 |
| 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 0* | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 0** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Keterangan : 0 = Kontrol tanpa ekstrak
0* = Kontrol DMSO
0** = Kontrol pelarut

L.7.2 Hasil Analisis nilai LC₅₀ dengan Analisis Probit



Lampiran 8. Dokumentasi

L.8.1 Preparasi Sampel



Daun kelor sampel kering jemur sebelum dikeringkan



Daun kelor sampel kering jemur sesudah dikeringkan



Tepung daun kelor sampel kering jemur



Daun kelor sampel kering angin sebelum dikeringkan



Daun kelor sampel kering angin sesudah dikeringkan



Tepung daun kelor sampel kering angin

L.8.2 Analisis Kadar Air



Pengovenan cawan + sampel



Desikator cawan + sampel



Penimbangan cawan + sampel

L.8.3 Ekstraksi Sonikasi dan Maserasi

L.8.3.1 Ekstraksi Sonikasi



Sampel ditimbang
dan ditambah
pelarut



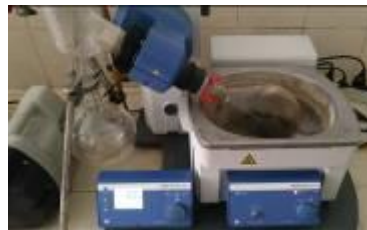
Proses ekstraksi
sonikasi



Proses penyaringan
ekstrak



Filtrat ekstrak
sonikasi daun kelor



Proses *Rotary*
evaporator



Penimbangan
ekstrak pekat

L.8.3.2 Ekstraksi Maserasi



Sampel ditimbang
dan ditambah
pelarut



Proses ekstraksi
maserasi



Proses penyaringan
ekstrak



Filtrat ekstrak
maserasi daun kelor



Proses *Rotary*
evaporator



Penimbangan
ekstrak pekat

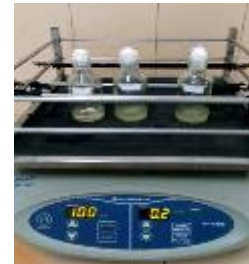
L.8.4 Uji Aktivitas Antibakteri



Pembuatan
konsentrasi ekstrak



Peremajaan bakteri



Inokulum stok dan
proses inkubasi



Inokulum kerja



Proses uji antibakteri



Pengukuran zona
hambat

L.8.4.1 Hasil Uji Antibakteri terhadap Bakteri *E.coli*



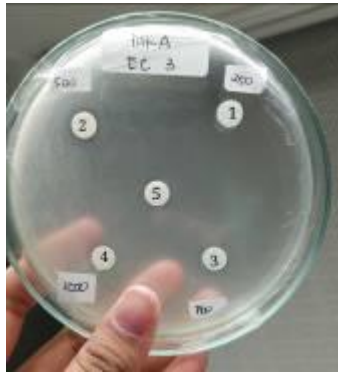
Zona hambat ekstrak
sonikasi sampel kering
angin



Zona hambat ekstrak
sonikasi sampel kering
jemur



Kontrol positif
dan negatif



Zona hambat ekstrak maserasi sampel kering angin



Zona hambat ekstrak maserasi sampel kering jamur



Kontrol positif dan negatif

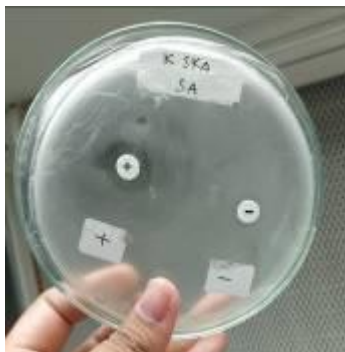
L.8.4.2 Hasil Uji Antibakteri terhadap Bakteri *S.aureus*



Zona hambat ekstrak sonikasi sampel kering angin



Zona hambat ekstrak sonikasi sampel kering jamur



Kontrol positif dan negatif



Zona hambat ekstrak maserasi sampel kering angin

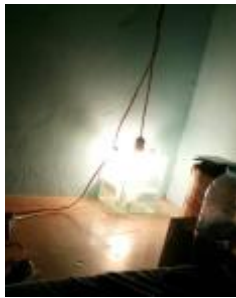


Zona hambat ekstrak maserasi sampel kering jamur



Kontrol positif dan negatif

L.8.5 Uji Toksisitas



Proses aerasi larva
Artemia salina



Pembuatan
larutan stok



Pembuatan
konsentrasi uji



Penambahan
DMSO dan air laut
ke dalam vial



Larutan dihomogen
dengan divortex



Proses memasukkan larva
Artemia salina ke dalam
vial



Uji toksisitas ekstrak
selama 24 jam

L.8.6 Identifikasi Senyawa Aktif (Uji Fitomikia)

L.2.6.1 Ekstrak Sonikasi Sampel Kering Angin



Flavonoid



Alkaloid
Dragendorff



Alkaloid
Meyer



Triterpenoid
dan
Steroid

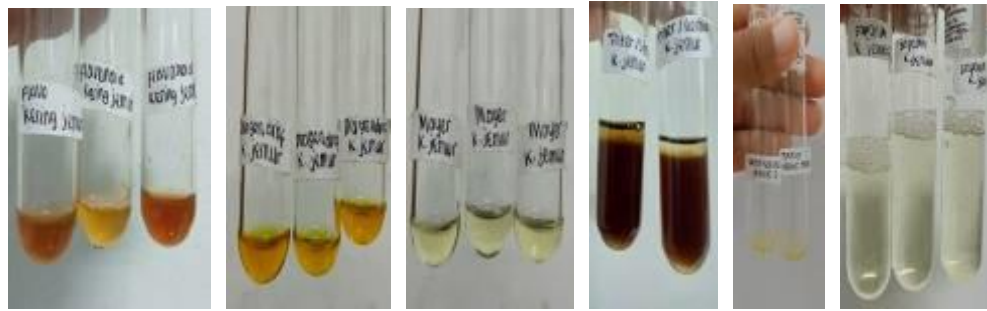


Tanin



Saponin

L.2.6.2 Ekstrak Sonikasi Sampel Kering Jemur



Flavonoid

Alkaloid
DragendorffAlkaloid
MeyerTriterpenoid
dan
Steroid

Tanin

Saponin

L.2.6.3 Ekstrak Maserasi Sampel Kering Angin



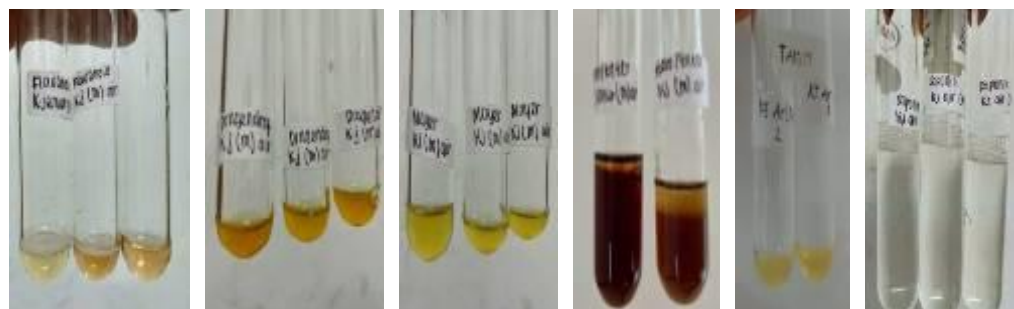
Flavonoid

Alkaloid
DragendorffAlkaloid
MeyerTriterpenoid
dan
Steroid

Tanin

Saponin

L.2.6.4 Ekstrak Maserasi Sampel Kering Jemur



Flavonoid

Alkaloid
DragendorffAlkaloid
MeyerTriterpenoid
dan
Steroid

Tanin

Saponin